UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO HUMANO

AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS SUBMETIDOS A DIFERENTES INTENSIDADES DE EXERCÍCIO EM ESTEIRA ROLANTE

CLÁUDIA DORNELLES SCHNEIDER

Orientador
ALVARO REISCHAK DE OLIVEIRA

PORTO ALEGRE, 2002.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO HUMANO

AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS SUBMETIDOS A DIFERENTES INTENSIDADES DE EXERCÍCIO EM ESTEIRA ROLANTE

CLÁUDIA DORNELLES SCHNEIDER

Orientador
ALVARO REISCHAK DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano, da Escola de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre.

PORTO ALEGRE, 2002.

S359a Schneider, Cláudia Dornelles.
Avaliação do estresse oxidativo em indivíduos submetidos a diferentes intensidades de exercício em esteira rolante. / Cláudia Dornelles Schneider. - Porto Alegre: Escola de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.
xviii + 148 f., il.; tab.

Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano. Escola de Educação Física. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

1. Fisiologia do exercício. 2. Exercícios físicos. 3. Estresse oxidativo. 4. Limiares ventilatórios. I.Título. II.Oliveira, Álvaro Reischak de, orientador.

CDU : 796.012:612

Ficha catalográfica elaborada por Ivone Job, CRB-10 / 624

"Obstáculos
são aquelas coisas
amedrontadoras
que você vê
quando tira os olhos
da sua meta."

Henry Ford

AGRADECIMENTOS

Agradeço a várias pessoas que estiveram envolvidas profissionalmente e pessoalmente comigo durante este período da minha vida.

Ao Alvaro, meu amado mestre, pela oportunidade, confiança e por ter sido sempre um grande amigo e um orientador presente, como todos deveriam ser.

Às queridas amigas e "professoras" Jaqueline, Patrícia, Lucila e Maristela, que nestes dois anos se mostraram pessoas maravilhosas e inesquecíveis, e que agora fazem parte da minha vida.

Ao Jerri e ao Flávio, sempre competentes e prontos a ajudar.

Aos bolsistas Luis Fernando, Márcio e Ana Paula, e as vampirinhas de plantão Karen e Luciane, pela ajuda no trabalho.

Aos amigos e funcionários da ESEF e do LAPEX, em especial a Dani, Cris, Liliane, Rosane, Ana, Márcio, Luciano, Alex e Paulo pela boa vontade, compreensão e profissionalismo.

Ao Laboratório de Espécies Ativas de Oxigênio (LEAO) do ICBS da UFRGS, sem o qual todas as análises sangüíneas não poderiam ter sido realizadas, em especial à Professora Adriane.

Ao Professor Paulo Ivo que me socorreu fornecendo material de consumo para que eu pudesse concluir meu estudo dentro do prazo.

A todos professores dos diversos departamentos desta universidade que dividiram seus conhecimentos e ensinamentos, em especial à Carla ten Caten, uma amiga que não via há muitos anos e reencontrei como professora, e muito me ajudou.

À Beth que entre outras coisas, segurou muitas "pontas" no consultório todo este período.

Aos colegas do mestrado pelo convívio, em especial Marcelo Sant'Anna, Marisa, Sofia, Márcio, Cláudia Candotti, Cíntia, Marines, Tartaruga, Edu Scheren e Edu Ramos.

Aos alunos da ESEF e aos triatletas que literalmente doaram seu sangue para que este trabalho fosse realizado.

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

À Probiótica do Brasil, pelo fornecimento do carboidrato em pó – Carb up.

À UFRGS que me proporcionou esta experiência de ampliar os horizontes no "mundo da pesquisa".

A meus pais, que dentre tudo, me educaram e me ensinaram a enfrentar a vida e seus desafios. Sei que hoje estão se realizando tanto quanto eu.

Agradeço a todos e a cada um. Apesar dos momentos difíceis tenho a certeza de que muitas coisas boas aconteceram e estão por acontecer. A experiência valeu a pena.

Muito obrigada, de coração.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS V

LISTA DE FIGURAS X

LISTA DE TABELAS XII

LISTA DE ABREVIATURAS XIII

LISTA DE UNIDADES XVI

RESUMO XVII

ABSTRACT XVIII

1. INTRODUÇÃO 1

1.1. OBJETIVOS 3
1.1.1. Objetivo Geral 3
1.1.2. Objetivos Específicos 3
1.2. HIPÓTESES 4
1.3. DEFINIÇÃO OPERACIONAL DE TERMOS 5

2. REFERENCIAL TEÓRICO 6

2.1. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO 6
2.1.1. Transporte de elétrons mitocondrial 6
2.1.2. Radicais livres 7
2.1.3. Formação das espécies reativas de oxigênio 8
2.1.4. Toxicidade do oxigênio 11
2.1.5. Estresse oxidativo 12
2.1.6. Lipoperoxidação 12
2.1.7. Mecanismos antioxidantes 14
2.1.7.1. Sistema de defesa enzimático 15
2.1.7.2. Sistema de defesa não enzimático 17
2.2. EXERCÍCIO FÍSICO 18
2.2.1. Adaptações metabólicas a uma sessão de exercício 18
2.2.2. Adaptações ao treinamento de resistência aeróbia 19
2.2.3. Potência aeróbia máxima 21
2.2.4. Ergoespirometria 23
2.2.5. Limiares ventilatórios 23
2.2.6. Ventilação 25
2.3. EXERCÍCIO FÍSICO E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO 27

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS 35

3.1. DELINEAMENTO DA PESQUISA 35
3.2. POPULAÇÃO E AMOSTRA 35
3.3. INSTRUMENTOS DE MEDIDA 35
3.3.1. Ficha de dados individuais 35

3.3.2. Balanças 36
3.3.3. Compasso de dobras cutâneas 36
3.3.4. Fita métrica 36
3.3.5. Estadiômetro 36
3.3.6. Programa de nutrição 36
3.3.7. Eletrocardiógrafo 37
3.3.8. Espirômetro (analisador de gases) 37
3.3.9. Esteira rolante 37
3.3.10. Centrífuga refrigerada 37
3.3.11. Geladeira 37
3.3.12. Contador beta 38
3.3.13. Espectrofotômetro 38
3.4. PROJETO DO EXPERIMENTO 38
3.4.1. Etapas do experimento 39
3.4.1.1. Variáveis de resposta 39
3.4.1.2. Parâmetros do processo 39
3.4.1.3. Fatores não controláveis 39
3.4.1.4. Restrições experimentais 42
3.4.1.5. Fatores controláveis (variáveis independentes) 42
3.4.1.6. Fatores constantes 42
3.5. SEQÜÊNCIA EXPERIMENTAL 44
3.5.1. Percentual de gordura (%G) 45
3.5.2. Inquérito alimentar 45
3.5.3. Alimentação pré-exercício 46
3.5.4. Testes na esteira rolante 47
3.5.4.1. Calibração do ergoespirômetro 47
3.5.4.2. Familiarização: 48
3.5.4.3. Teste máximo: 48
3.5.4.4. Determinação dos limiares ventilatórios: 49
3.5.4.5. Testes de cargas fixas: 52
3.5.5. Coleta e preparo da amostra sangüínea 53
3.6. DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS DE ANÁLISE SANGÜÍNEA 55
3.6.1. Quimiluminescência 55
3.6.2. Capacidade antioxidante total 56
3.6.3. Quantificação de proteínas 57
3.6.4. Superóxido dismutase 58
3.6.5. Catalase 59
3.6.6. Glutationa peroxidase 60
3.7. RECURSOS HUMANOS 62
3.8. ESTUDO PILOTO 62
3.9. TRATAMENTO ESTATÍSTICO 63
3.10. ASPECTOS ÉTICOS 64

4. RESULTADOS 65

4.1. CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS 65
4.2. DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DIETÉTICAS 71
4.3. TESTES NA ESTEIRA ROLANTE 73
4.4. PARÂMETROS OXIDATIVOS E ANTIOXIDANTES 76
4.4.1. Quimiluminescência (QL) 78

4.4.2. Capacidade antioxidante total (TRAP) 83
4.4.3. Superóxido dismutase (SOD) 88
4.4.4. Catalase (CAT) 93
4.4.5. Glutationa peroxidase (GPx) 98

5. DISCUSSÃO 103

5.1. CARACTERÍSTICAS DIETÉTICAS 103
5.2. TESTES NA ESTEIRA ROLANTE 104
5.3. QUIMILUMINESCÊNCIA (QL) 106
5.4. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (TRAP) 110
5.5. ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) 114
5.6. ENZIMA CATALASE (CAT) 116
5.7. ENZIMA GLUTATIONA PEROXIDASE (GPX) 118

LIMITAÇÕES DO ESTUDO 120

6. CONCLUSÕES 121

ALTERNATIVAS DE PROSSEGUIMENTO DOS ESTUDOS 122

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 123

ANEXOS 137

ANEXO 1 – VALORES PERCENTIS PARA POTÊNCIA AERÓBIA MÁXIMA 137
ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO 138
DECLARAÇÃO 139
ANEXO 3 - PAR-Q: QUESTIONÁRIO SOBRE PRONTIDÃO PARA ATIVIDADE FÍSICA 140
ANEXO 4 - REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS 141
ANEXO 5 – REQUERIMENTO ENERGÉTICO 144
ANEXO 6 – COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA PROPESQ/UFRGS 145
ANEXO 7 – ORDEM DE REALIZAÇÃO DOS TESTES 146
ANEXO 8 – RESULTADOS DO SPSS DOS EFEITOS PRINCIPAIS 148

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição eletrônica da molécula de oxigênio e alguns de seus derivados.....10
Figura 2 – Inter-relação entre antioxidantes.....17
Figura 3 – Ventilação em relação ao consumo de oxigênio.....50
Figura 4 – Equivalentes ventilatórios do oxigênio e dióxido de carbono em relação ao consumo de oxigênio.....51
Figura 5 – Pressão de oxigênio e dióxido de carbono no final da expiração em relação ao consumo de oxigênio.....51
Figura 6 – Consumo máximo de oxigênio em indivíduos treinados e não treinados.....66
Figura 7 – Volume de treino semanal.....66
Figura 8 – Percentual de gordura.....67
Figura 9 – Consumo de oxigênio alvo e alcançado nos testes submáximos no grupo treinado.....68
Figura 10 - Consumo de oxigênio alvo e alcançado nos testes submáximos no grupo não treinado.....68
Figura 11 – Velocidade média.....69
Figura 12 – Diferença de peso após os testes submáximos para ambos os grupos.....71
Figura 13 – Média do consumo de oxigênio alvo e alcançado no teste LV1, em indivíduos treinados (n=8) e não treinados (n=9).....73
Figura 14 – Média do consumo de oxigênio alvo e alcançado no teste LV2, em indivíduos treinados (n=8) e não treinados (n=9).....74
Figura 15 - Média do consumo de oxigênio alvo e alcançado no teste AnM, em indivíduos treinados (n=7) e não treinados (n=9).....74
Figura 16 – Efeito principal do exercício sobre o TRAP.....76
Figura 17 – Efeito principal do estado de condicionamento sobre a atividade da enzima GPx.....77
Figura 18 – Quimiluminescência do grupo treinado.....78
Figura 19 - Quimiluminescência do grupo não treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.....79
Figura 20 - Quimiluminescência entre os grupos na intensidade LV1.....80
Figura 21 – Quimiluminescência entre os grupos na intensidade LV2.....81

Figura 22 - Quimiluminescência entre os grupos na intensidade AnM.....82
Figura 23 – TRAP no grupo treinado.....83
Figura 24 – TRAP no grupo não treinado.....84
Figura 25 – TRAP na intensidade LV1.....85
Figura 26 – TRAP na intensidade LV2.....86
Figura 27 – TRAP na intensidade AnM.....87
Figura 28 – Atividade da enzima SOD no grupo treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.....88
Figura 29 – Atividade da enzima SOD no grupo não treinado. . Os números entre parênteses referem-se ao n.....89
Figura 30 – Atividade da enzima SOD entre os grupos antes e depois do exercício na intensidade LV1.....90
Figura 31 – Atividade da enzima SOD entre os grupos antes e depois do exercício na intensidade LV2.....91
Figura 32 – Atividade da enzima SOD entre os grupos antes e depois do exercício na intensidade AnM.....92
Figura 33 – Atividade da enzima CAT entre antes e depois do exercício no grupo treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.....93
Figura 34 – Atividade da enzima CAT entre antes e depois do exercício no grupo não treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.....94
Figura 35 – Atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade LV1.....95
Figura 36 – Atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade LV2.....96
Figura 37 - Atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade AnM.....97
Figura 38 – Atividade da enzima GPx entre antes e depois do exercício no grupo treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.....98
Figura 39 – Atividade da enzima GPx entre antes e depois do exercício no grupo não treinado Os números entre parênteses referem-se ao n.....99
Figura 40 – Atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade LV1.....100
Figura 41 – Atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade LV2.....101
Figura 42 - Atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade AnM.....102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Espécies reativas de oxigênio.....9
Tabela 2 – Matriz de relacionamentos.....40
Tabela 3 – Matriz experimental.....43
Tabela 4 – Características dos grupos em relação à idade, massa, estatura, $\dot{V}O_{2máx}$, volume de treino semanal e percentual de gordura.....65
Tabela 5 – Consumo de oxigênio alvo e alcançado nos testes submáximos no grupo treinado.....67
Tabela 6 - Consumo de oxigênio alvo e alcançado nos testes submáximos no grupo não treinado.....67
Tabela 7 – Velocidade média entre os grupos treinado e não treinado.....69
Tabela 8 – Freqüência cardíaca de ambos os grupos nas 3 intensidades de exercício... 70
Tabela 9 – Peso antes e depois dos testes submáximos no grupo treinado.....70
Tabela 10 – Peso antes e depois dos testes submáximos no grupo não treinado.....70
Tabela 11 – Parâmetros nutricionais de ambos os grupos.....72
Tabela 12 – Comparação da ingesta calórica com o gasto energético para cada grupo..72
Tabela 13 – Comparação dos grupos em relação a ingesta calórica e ao gasto energético.....72
Tabela 14 – Percentual do $\dot{V}O_{2máx}$ correspondente ao limiar anaeróbio.....75
Tabela 15 – Quimiluminescência do grupo treinado, antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho.....78
Tabela 16 - Quimiluminescência do grupo não treinado, antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho.....79
Tabela 17 – Quimiluminescência entre os grupos na intensidade LV1.....80
Tabela 18 – Quimiluminescência entre os grupos na intensidade LV2.....81
Tabela 19 - Quimiluminescência entre os grupos na intensidade AnM.....82
Tabela 20 – Comparação do TRAP antes e depois do exercício no grupo treinado.....83
Tabela 21 - Comparação do TRAP antes e depois do exercício no grupo não treinado.....84
Tabela 22 – Comparação do TRAP entre os grupos na intensidade LV1.....85
Tabela 23 – Comparação do TRAP entre os grupos na intensidade LV2.....86

Tabela 24 – Comparação do TRAP entre os grupos na intensidade AnM.....87
Tabela 25 – Atividade da enzima SOD no grupo treinado.....88
Tabela 26 – Atividade da enzima SOD no grupo não treinado.....89
Tabela 27 – Atividade da enzima SOD entre os grupos na intensidade LV1.....90
Tabela 28 – Atividade da enzima SOD entre os grupos na intensidade LV2.....91
Tabela 29 – Atividade da enzima SOD entre os grupos na intensidade AnM.....92
Tabela 30 – Atividade da enzima CAT entre antes e depois do exercício no grupo treinado.....93
Tabela 31 – Atividade da enzima CAT entre antes e depois do exercício no grupo treinado.....94
Tabela 32 – Atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade LV1.....95
Tabela 33 – Atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade LV2.....96
Tabela 34 - Atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade AnM.....97
Tabela 35 – Atividade da enzima GPx entre antes e depois do exercício no grupo treinado.....98
Tabela 36 – Atividade da enzima GPx entre antes e depois do exercício no grupo não treinado.....99
Tabela 37 – Atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade LV1.....100
Tabela 38 – Atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade LV2.....101
Tabela 39 – Atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade AnM.....102
Tabela 40 -Requisição energética aproximada em METs para caminhada sem e com inclinação.....144
Tabela 41 - Requisição energética aproximada em METs para corrida sem e com inclinação.....144

LISTA DE ABREVIATURAS

ACSM – American College of Sports Medicine
AGPI – Ácido graxo poliinsaturado
AnM – Teste na intensidade alta
AO – Antioxidante(s)
ATP – Adenosina trifosfato
BTPS – *Body temperature pressure saturated*

CAT – Catalase

CK – Enzima creatinafosfoquinase

CO_2 – Dióxido de carbono

DNA – Ácido desoxirribonucléico

EDTA – Ácido etilenodiaminotetraacético

EO – Estresse oxidativo

EOIE – Estresse oxidativo induzido pelo exercício

ERO – Espécies reativas de oxigênio

ESEF – Escola de Educação Física

FEO_2 – Fração expirada de oxigênio

$FECO_2$ – Fração expirada de gás carbônico

GPx – Glutationa peroxidase

GR – Glutationa redutase

GSH – Glutationa reduzida

GSH/GSSG – Razão glutationa reduzida por dissulfeto de glutationa

GSSG – Dissulfeto de glutationa ou glutationa oxidada

H_2O_2 – Peróxido de hidrogênio

HPLC – Cromatografia líquida de alto desempenho

ICBS – Instituto de Ciências Básicas da Saúde

Kcal - Quilocalorias

LA – Limiar aeróbio

LAn – Limiar anaeróbio

LAPEX – Laboratório de pesquisa do exercício

LDH – Enzima lactatodesidrogenase

LEAO - Laboratório de espécies ativas de oxigênio

LLa – Limiar de lactato

LPO – Lipoperoxidação

LV – Limiar ventilatório

LV1 – Teste na intensidade baixa

LV2 – Teste na intensidade média

MDA – Malondialdeído

MET – Equivalente metabólico

$NAD^{\bullet}$ - Radical da nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo forma reduzida

NAD^+ - Nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato forma reduzida

O_2 – Oxigênio

$O_2^{\bullet-}$ – Radical superóxido

$OH^{\bullet}$ – Radical hidroxil

PAR-Q - Questionário sobre prontidão para atividade física

$P_{ET}O_2$ – Pressão de oxigênio no final de expiração

$P_{ET}CO_2$ - Pressão de gás carbônico no final de expiração

QL – Quimiluminescência

q.s.p. – quantidade suficiente para

RDA – Recomendação diária de nutrientes

R - Razão de troca respiratória

RER – Razão de troca respiratória

RL – Radicais livres

SOD – Superóxido dismutase

STPD – *Standard temperature pressure dry*

TBA – Ácido tiobarbitúrico

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

t-BOOH – Hidroperóxido de tert-butila

TEAC – Capacidade antioxidante equivalente em trolox

TRAP – Capacidade antioxidante total

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

$\dot{V}CO_2$ –Produção de gás carbônico

$\dot{V}E$ – Ventilação

$\dot{V}E \cdot \dot{V}CO_2^{-1}$ – Equivalente ventilatório do gás carbônico

$\dot{V}E \cdot \dot{V}O_2^{-1}$ – Equivalente ventilatório do oxigênio

$\dot{V}O_2$ – Consumo de oxigênio

$\dot{V}O_{2máx}$ – Consumo máximo de oxigênio ou potência aeróbia máxima

XO – Xantina oxidase

%G – Percentual de gordura

LISTA DE UNIDADES

cm – centímetros

cps – contagens por segundo

$cps.mg^{-1}.Hb^{-1}$ – contagens por segundo por miligrama de hemoglobina

g – gramas

g proteína.kg^{-1} – gramas de proteína por quilograma de massa corporal

kcal - quilocalorias

kg – quilograma

$kg.ano^{-1}$ – quilograma por ano

$km.h^{-1}$ – quilômetros por hora

$L.dia^{-1}$ – litros por dia

M - molar

m - metros

mg – miligramas

$mg.mL^{-1}$ – miligramas por mililitros

min - minutos

mL – mililitros

$mL.kg^{-1}.min^{-1}$ – mililitros por quilograma por minuto

mm – milímetros

mM - milimolar

$mol.ano^{-1}$ – mol por ano

$mol.d^{-1}$ – mol por dia

μL – microlitros

μM – micromolar

N – normal

N – número total de observações

nm – nanômetros

nM.min^{-1}.mg proteína^{-1} – nanomolar por minuto por miligrama de proteína

nM.mg proteína^{-1} – nanomolar por miligrama de proteína

$U.mL^{-1}$ – unidades por mililitros

U SOD.mg proteína^{-1} – unidades de SOD por miligrama de proteína

RESUMO

O exercício físico está relacionado com a formação de radicais livres e com a adaptação do sistema antioxidante. O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros oxidativos e antioxidantes após três sessões independentes de exercício agudo em esteira rolante, em três intensidades diferentes, determinadas a partir dos limiares ventilatórios e consumo máximo de oxigênio, obtidos em um teste de potência aeróbia máxima. Dezessete indivíduos do sexo masculino com idade entre 20 e 30 anos divididos em dois grupos; oito triatletas, compondo o grupo treinado, e nove estudantes de educação física, compondo o grupo não treinado. As amostras sangüíneas foram coletadas antes e imediatamente após o exercício para determinação da quimiluminescência, da capacidade antioxidante total plasmática (TRAP) e da atividade eritrocitária das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx). Foram observados um efeito do exercício sobre a capacidade antioxidante total, que se apresentou aumentada após o exercício ($p<0,05$) e um efeito do estado de condicionamento físico sobre a atividade da enzima glutationa peroxidase, que se apresentou maior nos indivíduos treinados ($p<0,05$). Houve redução da quimiluminescência após o exercício em alta intensidade no grupo treinado ($p<0,05$). A enzima superóxido dismutase se apresentou elevada após o exercício nas intensidades baixa e média no grupo não treinado ($p<0,05$). Não foram encontradas mudanças na atividade da enzima catalase.

PALAVRAS-CHAVE: estresse oxidativo, exercício, limiares ventilatórios, capacidade antioxidante total, superóxido dismutase, catalase, glutationa peroxidase.

ABSTRACT

Exercise is related to free radical generation and adaptation of antioxidant defenses. The aim of this study was to evaluate oxidative and antioxidant parameters after three independent sessions of acute exercise in treadmill, under three different intensities, determined from ventilatory threshold and maximal oxygen uptake data, obtained from a maximal aerobic power test. Seventeen male subjects, aged 20 to 30 years, were separated in two groups: eight triathletes, compound trained group, and nine physical education students, compound non trained group. Blood samples were collected before and immediately after exercise for chemiluminescence, plasma total antioxidant capacity (TRAP), erythrocyte enzyme activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) determinations. Exercise effect was observed on total antioxidant capacity, which was found increased after exercise ($p<0.05$) and fitness effect on glutathione peroxidase activity enzime, which was reported to be greater in trained group ($p<0.05$). There was a reduction in chemiluminescence after high intensity exercise in trained group ($p<0.05$). Superoxide dismutase enzyme increased after low and medium exercise intensity in non trained group ($p<0.05$). No changes in catalase activity were found.

KEY-WORDS: oxidative stress, exercise, ventilatory threshold, plasma total antioxidant capacity, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos é crescente e notória a preocupação dos indivíduos e dos órgãos governamentais com a saúde e qualidade de vida da população (III DIRETRIZES..., 2001; BRASIL..., 2001). A atividade física e a alimentação vem sendo colocadas como âncoras nesse processo de busca pelo bem estar (FORNÉS *et al.*, 2002). Como incentivo à prática de exercícios e inclusão de hábitos alimentares saudáveis, muitas recomendações à população têm sido feitas. Para atingir esse objetivo algumas orientações têm sido generalizadas, como por exemplo, a quantidade e qualidade de exercício. Conforme o *ACSM Position Stand* (1998), para adultos saudáveis a recomendação é realizar exercícios aeróbios de moderada intensidade, três a cinco vezes por semana com duração de 20 a 60 minutos. Da mesma forma são noticiadas recomendações nutricionais do tipo: incluir mais fibras no dia a dia, comer mais frutas, verduras e alimentos integrais, evitar excesso de gorduras, etc (WALKER, 1997). É claro que o objetivo destes incentivos além de melhorar a saúde e reduzir o número de doentes, é também reduzir o custo com medicamentos e internações hospitalares.

Ao mesmo tempo, sabe-se que o aumento do consumo de oxigênio ocasionado pelo exercício aeróbio aumenta a formação de substâncias conhecidas popularmente como radicais livres (HALLIWELL, 1999, p.535; HEUNKS *et al.*, 1999), e que a alimentação do indivíduo pode ajudar na prevenção antioxidante de tais substâncias (HALLIWELL, 1999, p.200; EVANS, 2001). Em geral, os artigos científicos têm postulado que no exercício em alta intensidade há formação de radicais livres (LOVLIN *et al*., 1987; EBBELING, 1989). No entanto, não está claro a partir de qual intensidade isto ocorre, e se diferentes níveis de condicionamento físico influenciam o estresse oxidativo.

De acordo com Wilmore (2001, p.140), o consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_{2máx}$) é considerado como melhor medida isolada da resistência cardiorrespiratória e do condicionamento aeróbio. No entanto, o $\dot{V}O_{2máx}$ explica apenas parcialmente a capacidade para o exercício prolongado, sendo necessária a utilização de outros índices para melhor avaliação de atletas ou indivíduos sadios. A observação de que atletas altamente condicionados para a liberação de energia pelo metabolismo aeróbio demonstram acúmulo de lactato no sangue a percentuais mais elevados de seu $\dot{V}O_{2máx}$ comparados a indivíduos não condicionados, levou à utilização de curvas ventilatórias e de lactato como forma de identificação de limiares metabólicos e ventilatórios como índices da capacidade para o trabalho prolongado (WILMORE, 1993; RIBEIRO, 1995).

De acordo com a literatura (SIMON *et al.*, 1986; SCHNEIDER *et al.*, 1990; DENADAI, 1995; RIBEIRO, 1995; LUCÍA *et al.*, 2000), determinar a intensidade relativa de esforço baseado nos limiares ventilatórios fornece mais individualidade de informações, ao invés de utilizar percentuais de consumo máximo de oxigênio ou da freqüência cardíaca máxima. Sendo assim, foi estudada a influência de três diferentes intensidades de exercício baseadas nos limiares ventilatórios, sobre os parâmetros oxidativos e antioxidantes em humanos, em indivíduos treinados e não treinados. Em relação ao esporte foi estudado o triatlo, pois tem a característica de incluir três modalidades de cunho aeróbio, como natação, ciclismo e corrida. Ambos os grupos foram comparados em relação às questões oxidativas e antioxidantes. Além disso, os nutrientes ingeridos rotineiramente pelos indivíduos foram comparados às recomendações diárias de ingesta de nutrientes (RDA, 1989).

O estudo buscou responder à seguinte questão:

- Qual o efeito das diferentes intensidades relativas de exercício sobre os parâmetros oxidativos e antioxidantes em indivíduos treinados e não treinados?

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito de diferentes intensidades relativas de exercício sobre os parâmetros oxidativos e antioxidantes em indivíduos treinados e não treinados.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Quantificar os parâmetros oxidativos e antioxidantes, através da medida sangüínea da quimiluminescência, da capacidade antioxidante total e das enzimas antioxidantes, em três diferentes intensidades relativas de exercício, em ambos os grupos.

- Observar o efeito da intensidade e do condicionamento físico sobre os parâmetros oxidativos e antioxidantes.

- Comparar os grupos treinado e não treinado frente às mesmas intensidades relativas de exercício, em relação aos parâmetros analisados.

1.2. Hipóteses

H1 – Existe aumento do estresse oxidativo após o exercício nas intensidades média e alta, independente do grupo;

H2 – Existe aumento nos parâmetros antioxidantes após o exercício nas intensidades média e alta no grupo treinado;

H3 – Não ocorre nenhuma mudança nos parâmetros oxidativos e antioxidantes após o exercício em baixa intensidade;

H4 – Indivíduos não treinados apresentam maior estresse oxidativo após o exercício em relação aos treinados, independente da intensidade;

H5 – Indivíduos não treinados apresentam tanto antes quanto depois do exercício atividades antioxidantes menores em relação aos treinados, independente da intensidade.

1.3. Definição operacional de termos

- Indivíduos treinados = indivíduos saudáveis, que praticassem regularmente triatlo há pelo menos dois anos, e que apresentassem um volume de treinamento semanal e consumo máximo de oxigênio significativamente maiores que os não treinados.

- Indivíduos não treinados = indivíduos saudáveis que praticassem algum exercício físico esporádico ou nenhum, e que apresentassem um volume de exercício semanal e consumo máximo de oxigênio significativamente menores que os treinados.

- Carga de trabalho ou intensidade de exercício = foram determinadas três diferentes intensidades de trabalho, baseadas nos limiares ventilatórios e no $\dot{V}O_{2máx}$ individuais, denominadas LV1, LV2 e AnM.

- Baixa intensidade = corresponde à intensidade LV1.

- Média intensidade = corresponde à intensidade LV2.

- Alta intensidade = corresponde à intensidade AnM.

- Parâmetro oxidativo = corresponde à medida de lipoperoxidação (um dos parâmetros de estresse oxidativo), quantificada através da técnica da quimiluminescência.

- Parâmetros antioxidantes = correspondem à medida da capacidade antioxidante total, e das enzimas antioxidantes catalase, superóxido dismutase e glutationa peroxidase.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A revisão de literatura está dividida em três partes: abordou-se inicialmente as espécies reativas de oxigênio, incluindo história do oxigênio, cadeia de transporte de elétrons, formação das substâncias reativas e sua toxicidade, estresse oxidativo, lipoperoxidação e mecanismos antioxidantes. Num segundo momento analisou-se o exercício físico, sob os aspectos de adaptações metabólicas, potência aeróbia máxima, determinação das intensidades de exercício e limiares ventilatórios. Ao final da revisão são apresentados artigos científicos unindo os temas exercício e espécies reativas de oxigênio, tanto em modelo animal quanto em modelo humano, com diversos protocolos de exercício.

2.1. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Exceto para certos organismos unicelulares anaeróbios e aerotolerantes, todos os animais, plantas e bactérias requerem oxigênio (O_2) para produção eficiente de energia, através do uso da cadeia de transporte de elétrons dependente de O_2. Esta necessidade obscurece o fato de que o O_2 é um gás mutagênico tóxico, e os aeróbios sobrevivem porque possuem defesas antioxidantes (AO) para proteger-se dele (HALLIWELL, 1999).

2.1.1. Transporte de elétrons mitocondrial

Conforme Halliwell (1999), o oxigênio que respiramos é metabolizado em nosso organismo da seguinte maneira: aproximadamente 85 a 90 % é utilizado pela mitocôndria através da cadeia de transporte de elétrons, e os 10 a 15 % restantes utilizados por diversas enzimas oxidases e oxigenases e também por reações químicas de oxidação diretas. Por exemplo, a enzima xantina oxidase usa o O_2 para oxidar xantina e hipoxantina em ácido úrico; e no citocromo P450 há oxidação de uma ampla gama de substratos às custas de O_2.

Na parte terminal da cadeia de transporte de elétrons, temos a enzima citocromo oxidase, que é quem realmente utiliza o O_2 (em torno de 95 a 98 % dos 85 a 90 % citados acima). Ela remove um elétron de cada uma das quatro moléculas reduzidas de citocromo c, oxidando-as, e adiciona os quatro elétrons ao O_2 para formar água (reação 1). Os 2 a 5 % restantes são reduzidos univalentemente em metabólitos denominados espécies reativas de oxigênio (ERO) (HALLIWELL, 1999).

Reação 1 – Redução tetravalente do oxigênio

$$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2\ H_2O + \text{energia}$$

2.1.2. Radicais livres

As ERO ou também chamadas espécies derivadas de oxigênio incluem os radicais livres (RL) e outras espécies não-radicais. Além das ERO, temos uma ampla gama de RL, como os radicais centrados no carbono, enxofre, cloro e nitrogênio (HALLIWELL, 1999).

Um radical livre é definido como um átomo, grupo de átomos ou molécula, com um ou mais elétrons desemparelhados e capaz de existência independente (DEL MAESTRO, 1980; SOUTHORN, 1988a,b).

Os RL são produzidos naturalmente em nosso organismo dentro dos processos metabólicos, e muitas vezes são de extrema utilidade, como nas situações onde há necessidade de ativação do sistema imunológico (como exemplo, os macrófagos utilizam o peróxido de hidrogênio e o superóxido para destruir bactérias e outros elementos estranhos); na detoxificação de drogas; na produção do fator relaxante derivado do endotélio, o óxido nítrico, extremamente importante nos processos que desencadeiam o relaxamento dos vasos sangüíneos (MONCADA, 2001); e, segundo Jenkins (1987), há

evidências de que o peróxido de hidrogênio pode ter um papel facilitador na repleção do glicogênio.

2.1.3. Formação das espécies reativas de oxigênio

Em razão de sua configuração eletrônica, o oxigênio tem uma forte tendência a receber um elétron de cada vez. A conversão univalente do oxigênio à água processa-se da seguinte maneira:

(a) A adição de um elétron a uma molécula de oxigênio no estado fundamental gera a formação do radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$) (reação 2).

Reação 2: $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet -}$

(b) O superóxido ao receber mais um elétron e dois íons hidrogênio, forma peróxido de hidrogênio (H_2O_2) através do processo chamado dismutação (PAL YU, 1994). Essa reação é catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD) que é encontrada em quantidades elevadas nas células de mamíferos e que acelera a reação a 10^4 vezes a freqüência para dismutação espontânea num pH fisiológico (reação 3).

Reação 3: $2\ O_2^{\bullet -} + 2H^+ \xrightarrow[SOD]{} H_2O_2$

(c) Quando o peróxido de hidrogênio recebe mais um elétron e um íon hidrogênio, é formado o radical hidroxil ($OH^{\bullet}$), que é o mais reativo dos intermediários, pois pode reagir e alterar qualquer estrutura celular que esteja próxima, e assim influenciar enzimas, membranas ou ácidos nucléicos (JENKINS, 1988).

O radical hidroxil pode ser formado quando o peróxido de hidrogênio reage com íons ferro ou cobre (reação 4). A reação é conhecida como reação de Fenton.

Reação 4: $Fe^{2+}/Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow OH^{\bullet} + OH^- + Fe^{3+}/Cu^{2+}$

Os íons de metais de transição podem também catalisar a reação entre peróxido de hidrogênio e superóxido, conduzindo à produção de radical hidroxil (reação 5), a chamada reação de Haber-Weiss.

Reação 5: $H_2O_2 + O_2^{\bullet -} \xrightarrow{Fe/Cu} OH^{\bullet} + OH^- + O_2$

Os radicais superóxido ($O_2^{\bullet -}$) e hidroxil ($OH^{\bullet}$) têm elétrons desemparelhados em sua órbita mais externa e são, portanto, chamados radicais livres. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) não é um radical livre: representa um metabólito do oxigênio parcialmente reduzido. Outras espécies reativas de interesse são os oxigênios singletes, que são formas de oxigênio spin alterada. Esses metabólitos derivados do oxigênio, considerados em conjunto, são denominados espécies reativas de oxigênio (Tabela 1) em função da sua aumentada reatividade para as biomoléculas (FISCHER, 1987), e em geral alteram o tamanho e a forma dos compostos com quem eles interagem.

Cada ERO tem suas próprias características, mostrando diferentes reatividades e tempos de meia-vida (DEL MAESTRO, 1980; PAL YU, 1994).

Tabela 1 - Espécies reativas de oxigênio

Radicais livres	Não radicais
Superóxido, $O_2^{\bullet -}$	Peróxido de hidrogênio, H_2O_2
Hidroxil, $OH^{\bullet}$	Ácido hipocloroso, HOCl
Peroxil, $RO_2^{\bullet}$	Ozônio, O_3
Alcoxil, $RO^{\bullet}$	Peroxinitrito, $ONOO^-$
Hidroperoxil, $HO_2^{\bullet}$	

* O ponto sobrescrito ($^{\bullet}$) é usado para simbolizar um radical

A formação destes compostos é estabelecida pela perda ou ganho de um elétron, como por exemplo, na fissão homolítica de uma ligação covalente, em que cada um dos átomos fica com um elétron desemparelhado. Cabe ressaltar, que embora o oxigênio molecular no estado fundamental seja um birradical, sua reatividade é baixa porque seus dois elétrons

desemparelhados têm spins paralelos (PAL YU, 1994; HALLIWELL, 1999). Através da figura 1 podemos observar os derivados do O_2 que possuem número ímpar de elétrons na última camada e por isso são reativos.

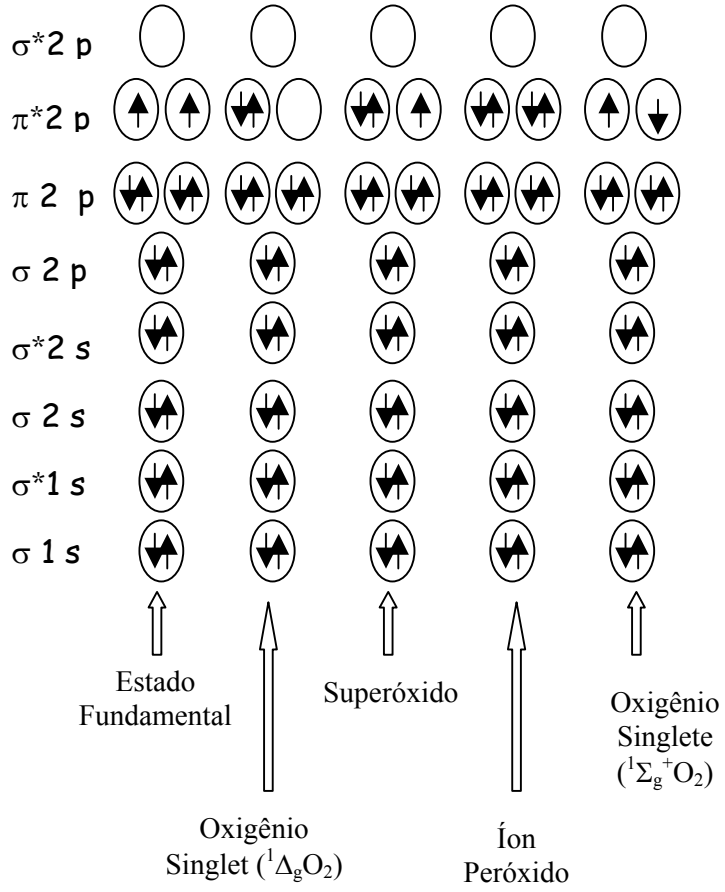

Figura 1 - Distribuição eletrônica da molécula de oxigênio e alguns de seus derivados (modificado de HALLIWELL, 1999, p.25).

Na cadeia respiratória, quando o NADH está ligado à enzima desidrogenase láctica, ele pode ser oxidado pelo radical superóxido e produzir o radical $NAD^{\bullet}$, que por sua vez pode iniciar as reações em cadeia ou reagir com o oxigênio formando NAD^+ e

superóxido. Estas reações podem reduzir o poder da desidrogenase láctica e iniciar reações danosas adicionais (FRIDOVICH *apud* JENKINS, 1988).

Embora os radicais possam alterar enzimas por ação direta sobre elas, a atividade enzimática pode também ser influenciada indiretamente através de mudanças na estrutura celular (JENKINS, 1988).

2.1.4. Toxicidade do oxigênio

O oxigênio que é primordial para a sobrevivência dos seres vivos, pode sob alguns aspectos tornar-se lesivo. Em 1954, Rebecca Gershman e Daniel L. Gilbert (apud HALLIWELL, 1999, p.22) propuseram que a maioria dos efeitos danosos do oxigênio poderiam ser atribuídos à formação de radicais livres de oxigênio. A partir da purificação e da caracterização da enzima superóxido dismutase por McCord (1969), o estudo das ERO intensificou-se, e seus efeitos deletérios para os organismos tornaram-se mais evidentes.

Uma das teorias mais populares para explicar a toxicidade do O_2 propõe que esta toxicidade é devida à super produção de $O_2^{\bullet-}$. Dentre as fontes de produção, parece que a mais importante é a cadeia de transporte de elétrons, onde 1 a 3% do O_2 reduzido pode formar $O_2^{\bullet-}$. Estes números não parecem grandes, mas deve ser lembrado que organismos aeróbios consomem muito O_2 durante a respiração (HALLIWELL, 1999, p.33).

O $O_2^{\bullet-}$ tem ações fisiológicas importantes e uma reatividade limitada, mas em excesso é tóxico por gerar outras ERO mais reativas, como o $OH^{\bullet}$.

Conforme Meneghini, (1987) e Southorn, (1988b), uma série de trabalhos relacionaram um grande número de doenças a processos mediados por RL, como doenças inflamatórias, enfisema pulmonar, injúria por isquemia seguida de reperfusão (miocárdica

ou em outros tecidos), danos cérebrovasculares, aterosclerose, câncer e envelhecimento (dano ao DNA e outras macromoléculas levando a doenças degenerativas, lesões malignas e eventual morte de células vitais).

2.1.5. Estresse oxidativo

Pode-se dizer que um organismo encontra-se sob estresse oxidativo (EO), quando ocorre um desequilíbrio entre os sistemas próoxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes (SIES, 1986).

O termo estresse oxidativo serve para as circunstâncias nas quais o "desafio" por radicais livres resulte em dano tecidual ou na produção de compostos conhecidamente tóxicos ou danosos aos tecidos. Um dos principais mecanismos de lesão neste caso é a lipoperoxidação (LPO). As membranas das células de mamíferos contém grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) que podem sofrer lesão peroxidativa. Os ácidos graxos saturados e os monoinsaturados são mais resistentes ao ataque dos radicais livres que os poliinsaturados.

2.1.6. Lipoperoxidação

A lipoperoxidação é uma reação em cadeia que ocorre na membrana celular e pode ser dividida em três etapas:

(a) Iniciação: provavelmente o radical hidroxil ou o oxigênio singlete – espécies com spins antiparalelos - reagem abstraindo um átomo de hidrogênio de um grupo metileno (-CH_2-) da cadeia lateral de um AGPI (reação 6), formando um radical centrado no carbono. Os hidrogênios ligados aos carbonos metilenos são univalentes e, portanto mais reativos (EGE, 1984).

Reação 6: $L\text{-}CH + OH^{\bullet} \rightarrow L\text{-}C^{\bullet} + H_2O$

Onde L representa a continuação da cadeia do ácido graxo.

(b) Propagação*:* este radical centrado no carbono ($L–C^{\bullet}$) por sua vez, reage com o oxigênio produzindo radicais peroxil (reação 7), os quais propagam a reação.

Reação 7: $L\text{-}C^{\bullet} + O_2 \rightarrow L\text{-}C\text{-}O\text{-}O^{\bullet}$

(c) Terminação: ocorre quando dois radicais reagem entre si (reação 8).

Reação 8: $L\text{-}C^{\bullet} + L\text{-}C^{\bullet} \rightarrow L\text{-}C\text{-}C\text{-}L$

Karmazyn *et al*. (1979), demonstraram que a LPO alteraria a permeabilidade das membranas, induzindo a formação de poros hidrofílicos. Del Maestro *et al.* (1981), determinaram ainda, que os produtos da degradação poderiam difundir-se do local das reações e dar origem a edema celular, alterações da permeabilidade vascular, inflamação e quimiotaxia. Hoschstein (1981), demonstrou uma associação entre LPO e polimerização de proteínas de membrana ao envelhecimento eritrocitário.

Em relação aos produtos finais da LPO, temos o malondialdeído (MDA), hidrocarbonetos voláteis (como os gases etano e pentano), aldeídos saturados e insaturados, cetonas e outros produtos que podem ser detectados experimentalmente (HALLIWELL, 1999). Alguns produtos podem ainda, reagir entre si formando um tetróxido instável (THOMAS, 1997) que, decomposto, dá origem a dois oxigênios singlete e a uma carbonila excitada (RUSSEL, 1957). Estas espécies excitadas retornam ao seu estado fundamental emitindo quantas de luz visível. Este processo é conhecido como quimiluminescência (QL) e constitui-se num importante método indireto de quantificação de LPO.

Além da QL muitas técnicas estão disponíveis para medir a taxa de peroxidação dos lipídios, dentre elas o TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) para

medir aldeídos, entre eles o MDA, e a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC). É importante salientar que cada técnica mede algo diferente. Dessa forma, nenhum método sozinho pode ser dito como uma medida global acurada de LPO.

2.1.7. Mecanismos antioxidantes

Como as ERO são continuamente formadas em pequenas quantidades pelos processos normais do metabolismo, todas as células aeróbias possuem mecanismos para mitigar seus efeitos agressores. A organização estrutural da célula é, por si só, importante para a separação dos reagentes das reações de formação de ERO uns dos outros (DORMANDY, 1978).

Sistema de defesa celular:

- Os AGPI da membrana estão protegidos por duas camadas hidrofílicas.
- A vitamina E localiza-se "encravada" na membrana, e age impedindo a propagação da LPO, assim como a glutationa, o ácido úrico e a vitamina C (existe uma relação íntima entre nutrição e defesa AO (EVANS, 2001)).
- Os metais de transição encontram-se ligados a proteínas como transferrina, albumina e ceruloplasmina, evitando assim que estes íons catalisem as reações de Fenton e Haber-Weiss.
- Há ainda uma variedade de enzimas capazes de neutralizar os radicais.

Cabe salientar que a composição das defesas AO difere de tecido a tecido, de tipo de célula a tipo de célula e possivelmente mesmo de célula a célula do mesmo tipo, em um dado tecido. Fluídos extracelulares têm diferentes mecanismos protetores comparados aos intracelulares (HALLIWELL, 1999).

A importância relativa dos AO depende de: (a) qual ERO é gerada; (b) como é gerada; (c) onde é gerada; (d) que alvo de dano é medido. Se o EO é o mesmo, mas um diferente alvo de dano é medido, diferentes respostas resultam. Por exemplo, a exposição do plasma humano à fumaça do cigarro causa peroxidação dos lipídios plasmáticos, a qual é inibida pelo ascorbato. Por outro lado, o ascorbato não protege contra o dano às proteínas do plasma, como medido pelo método das carbonilas.

Podemos dividir nosso sistema de defesa em enzimático e não-enzimático:

2.1.7.1. Sistema de defesa enzimático

Inclui as enzimas superóxido dismutase, catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx), que, numa interação cooperativa com outras enzimas e agentes redutores, provêem proteção celular. Estas enzimas evitam o acúmulo de radical superóxido e de peróxido de hidrogênio para que não haja produção do radical hidroxil, contra o qual não existe sistema enzimático de defesa (PAL YU, 1994).

O radical superóxido é o mais reativo, e é convertido até peróxido de hidrogênio pela SOD, como descrito anteriormente. Por sua vez, o peróxido de hidrogênio é metabolizado à água e oxigênio por duas importantes enzimas intracelulares: a CAT e a GPx.

A CAT desempenha um importante papel na eliminação do peróxido de hidrogênio, promovendo a sua catálise até água (reação 9).

Reação 9: $2\ H_2O_2 \xrightarrow[CAT]{} 2\ H_2O + O_2$

A GPx também funciona como mecanismo de proteção contra o estresse oxidativo, catalisando a conversão da glutationa reduzida (GSH) a dissulfeto de glutationa (GSSG), removendo peróxido de hidrogênio e formando água (FERRARI *et al*., 1985) (reação 10).

Reação 10: $2\ H_2O_2 + 2\ GSH \xrightarrow[GPx]{} GSSG + 2\ H_2O$

A enzima glutationa redutase (GR) é a responsável por reduzir a GSSG de volta a GSH (reação 11).

Reação 11: $GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow[GR]{} 2GSH + NADP^+$

O tripeptídeo glutationa (GSH) está envolvido em muitos processos metabólicos, incluindo o metabolismo do ácido ascórbico e prevenindo que grupos sulfidrila se oxidem e formem pontes dissulfeto. Parece estar envolvida no transporte intracelular de cobre (a GSH pode quelar íons cobre e diminuir sua habilidade de gerar radicais livres). Uma diminuição na glutationa reduzida (GSH) com um concomitante aumento no dissulfeto de glutationa (ou forma oxidada da glutationa: GSSG), é amplamente aceito como evidência de que o sistema biológico sofreu um "desafio" pelos radicais livres. (JENKINS, 2000). A razão glutationa reduzida por dissulfeto de glutationa (GSH/GSSG) em células normais é alta, sendo maior que 10 para 1 no sangue total, plasma e eritrócitos.

Em 1995, Tessier *et al.,* avaliando em humanos as enzimas antioxidantes sangüíneas da GSH, confirmam a GSH como um marcador sensível de estresse oxidativo induzido pelo exercício submáximo exaustivo, e que o potencial antioxidante da GPx dos eritrócitos pode ser desenvolvido com o treinamento de resistência aeróbia.

2.1.7.2. Sistema de defesa não enzimático

Este sistema inclui compostos de baixo peso molecular sintetizados pelo organismo humano como bilirrubina, hormônios sexuais, melatonina, coenzima Q, ácido úrico, etc., ou ingeridos através da dieta como ácido ascórbico (vitamina C), alfa tocoferol (vitamina E), carotenóides (vitamina A) e polifenóis de plantas (flavonóides).

Ames *et al.* (1981), propõem o papel protetor do urato no sangue. Os humanos contêm cerca de 750g de hemoglobina, e aproximadamente 3% desta (22g) sofre auto-oxidação diariamente produzindo metahemoglobina e radical superóxido. O superóxido é dismutado pela SOD em H_2O_2 e O_2. O H_2O_2, ou possivelmente os hidroperóxidos lipídicos, podem ser importantes iniciadores da LPO nas membranas dos eritrócitos. Os autores então, pressupõem que um dos papéis do urato é ajudar a suprimir a LPO nos eritrócitos.

As reações de oxiredução ocorrem em cadeia, com um AO regenerando outro, como pode ser visto na figura 2.

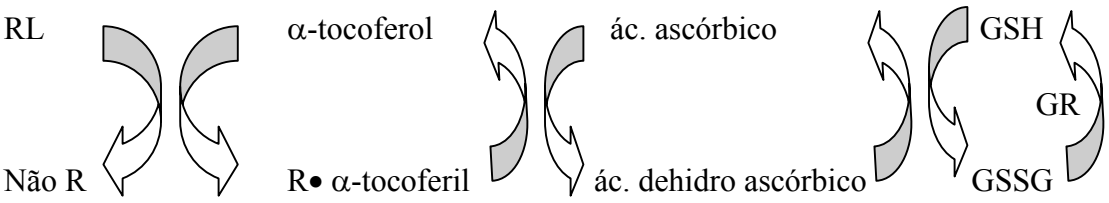

Figura 2 – Inter-relação entre antioxidantes (adaptado de Balakrishnan, 1998).

Quando uma substância age neutralizando os radicais livres na fase de iniciação ou propagação da LPO, havendo a formação de um composto menos reativo, é chamada de *scavenger*. Uma substância antioxidante pode, também, ter a propriedade de absorver a

energia de excitação dos radicais, neutralizando-os, neste caso é chamada de *quencher* (SIES, 1991; HALLIWELL, 1997).

2.2. EXERCÍCIO FÍSICO

O papel da atividade física está bem estabelecido na prevenção e controle de diversas doenças, como câncer de cólon, e possivelmente câncer de mama e de próstata (MARRETT *et al.*, 2000), diabetes e hipertensão (ALBRIGHT *et al.,* 2000), dislipidemias e aterosclerose (III DIRETRIZES..., 2001), entre outras.

Por outro lado, sabe-se que a atividade física é uma reconhecida forma de estresse. A exposição crônica a esse estresse, chamada treinamento físico, promove uma série de adaptações fisiológicas em nível metabólico, neuromuscular, cardiovascular, respiratório, endócrino, gastrointestinal e outros.

2.2.1. Adaptações metabólicas a uma sessão de exercício

As adaptações metabólicas a uma sessão de exercício ocorrem tanto durante quanto após o exercício. Após o início do exercício, eventos bioquímicos estimulam a mitocôndria a aumentar a taxa metabólica.

Em intensidades baixas a moderadas, pequenos incrementos na intensidade resultam em um aumento exponencial no consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$) até o estado de equilíbrio ser alcançado. O tempo para alcançar o estado de equilíbrio é de aproximadamente 3 minutos, mas varia dependendo da magnitude do incremento e do estado de condicionamento do indivíduo. Quanto maior o incremento, maior o tempo para chegar ao equilíbrio, embora indivíduos com alta capacidade respiratória levem menos

tempo. No exercício prolongado em estado de equilíbrio, com intensidade submáxima, há um leve aumento no $\dot{V}O_2$, conhecido como *drift* de oxigênio. Parece que uma combinação da temperatura muscular aumentada e das catecolaminas circulantes contribuem para este *drift*.

Em um exercício intenso, o qual não é capaz de manter a condição de estado de equilíbrio, há instalação de acidose metabólica e um rápido aumento na respiração mitocondrial. Quanto maior a intensidade, mais rápido o aumento no $\dot{V}O_2$.

Entre as adaptações que ocorrem durante a recuperação após o exercício, temos: uma remoção continuada dos produtos finais do metabolismo (lactato, íons hidrogênio e dióxido de carbono) e reposição dos substratos endógenos usados durante o exercício (creatina fosfato, glicogênio e lipídios). Dependendo da duração e intensidade, e condições de recuperação (ativa ou passiva, nutrição), o processo pode levar de minutos a diversos dias (ROBERGS, 1997).

2.2.2. Adaptações ao treinamento de resistência aeróbia

Atletas de resistência aeróbia possuem uma predominância de fibras lentas (GARRET, 2000), as quais possuem numerosas mitocôndrias, sendo a maior parte delas localizada próximo à periferia da fibra e aos capilares sangüíneos, os quais fornecem um amplo suprimento de oxigênio e nutrientes. Essas fibras possuem alta capacidade para o metabolismo oxidativo, resistem à fadiga e são especializadas no desempenho de ações intensas e repetidas por períodos prolongados.

Em decorrência da repetição de séries de exercícios durante dias, semanas ou meses, surgem adaptações fisiológicas e bioquímicas, que leva à melhora no desempenho

de tarefas específicas. A natureza e a magnitude das respostas adaptativas dependem da intensidade e da duração dos exercícios, do tipo de treinamento, da freqüência de repetição da atividade, das limitações genéticas e do nível anterior de atividade do indivíduo (MAUGHAN *et al.*, 2000). Os principais efeitos do treinamento de resistência aeróbia sobre o músculo esquelético estão relacionados com a liberação, captação e utilização do oxigênio, relacionando-se à sua capacidade oxidativa e a seu suprimento capilar. O exercício regular produz adaptações centrais (como melhoria do desempenho cardíaco) e periféricas (como melhoria do desempenho muscular local). As mudanças periféricas resultam em maior produção de energia e mais eficiente remoção do "lixo" metabólico, desta forma reduzindo os fatores considerados responsáveis pela fadiga (WILMORE, 1993, p.141).

As adaptações musculares e cardiovasculares, e as alterações ultra-estruturais e metabólicas (enzimáticas), acarretam aumento da capacidade de liberação de oxigênio e de sua extração pela musculatura ativa, assim como controle modificado e melhorado do metabolismo no interior das fibras musculares individuais (MAUGHAN *et al.,* 2000).

A melhora da capacidade aeróbia é determinada em parte pelo número de calorias gastas durante cada sessão de treino e da quantidade total de trabalho realizada semanalmente. Os ganhos são proporcionais ao volume de treinamento e dependem também das características genéticas do indivíduo. Nem todos têm o mesmo potencial de adaptação ao treinamento. Além disso, a qualidade do treinamento também influencia (WILMORE, 1993, p.146).

No estado não treinado, os músculos de um indivíduo têm uma dada capacidade respiratória (taxa na qual o músculo consome o oxigênio). O treinamento aeróbio pode aumentar esta capacidade respiratória. Por exemplo, quando um indivíduo gasta em torno

de 1.500 a 2.500 kcal por semana com algum treinamento físico, essa capacidade respiratória aumenta em torno de 1,8 vezes a mais que no indivíduo sedentário. E quando este gasto calórico ultrapassa 5.000 kcal por semana, essa capacidade aumenta 2,7 vezes mais comparada ao não treinado. Por outro lado, parece que despender acima de 10.000 kcal com exercícios por semana não aumenta ainda mais a capacidade respiratória do músculo. Sendo assim, pode-se sugerir que há um limite da capacidade muscular em se adaptar ao treinamento aeróbio, e as adaptações próximas ao máximo se dão com treinamento que tenham gastos energéticos em torno de 6.000 a 8.000 kcal por semana. Estas melhoras coincidem com melhoras no consumo máximo de oxigênio do indivíduo (WILMORE, 1993).

Além disso, os níveis menores de liberação de cortisol e catecolaminas implicam menor estresse global e menor freqüência cardíaca (MAUGHAN *et al.,* 2000).

Além do treinamento aeróbio, sabe-se que os atletas de resistência aeróbia também costumam treinar anaerobiamente, e isto provoca adaptações capazes de melhorar a capacidade de tamponamento do músculo, ou seja, eles aumentam o limiar para o início da acumulação de lactato, portanto são capazes de se exercitar a altos percentuais do seu consumo máximo de oxigênio antes que o lactato sangüíneo comece a acumular-se. Este fenômeno é conhecido como limiar anaeróbio, e é considerado um preditor de desempenho que é mais sensível ao treinamento que o $\dot{V}O_{2máx}$ (WILMORE, 1993).

2.2.3. Potência aeróbia máxima

É utilizada para avaliar o nível de condicionamento físico e equivale à máxima quantidade de oxigênio que pode ser consumido por unidade de tempo por um indivíduo

durante atividade de intensidade com aumento progressivo, que envolva grandes grupos musculares, que é continuada até a exaustão. É expressa em termos de oxigênio, e normalmente escrita como o máximo (máx) volume por minuto ($\dot{V}$) de oxigênio (O_2) e é abreviada como $\dot{V}O_{2máx}$ (McDOUGALL *et al.,* 1991).

A identificação do $\dot{V}O_{2máx}$ em um teste com aumento progressivo de trabalho é obtida quando a um aumento da carga, não mais corresponde uma elevação do $\dot{V}O_2$. Quando este critério não é obtido, o termo $\dot{V}O_2$ de pico é utilizado para identificar o maior $\dot{V}O_2$ atingido.

De acordo com Wilmore (2001) e pelas diretrizes do colégio americano de medicina esportiva (ACSM's guidelines, 2000), o $\dot{V}O_{2máx}$ é considerado a melhor medida isolada da resistência cardiorrespiratória e do condicionamento aeróbio, e está relacionado à capacidade funcional do coração.

É importante salientar que o $\dot{V}O_{2máx}$ pode ser modificado pelo treinamento, porém, em indivíduos saudáveis, mais de 90% da variabilidade do $\dot{V}O_{2máx}$ é determinada geneticamente (KLISSOURAS, 1971). Além disso, a capacidade para o trabalho prolongado também depende da habilidade de tolerar intensidades submáximas de exercício a um percentual elevado do $\dot{V}O_{2máx}$, independente de seu valor absoluto (RIBEIRO, 1995).

As diretrizes do ACSM (2000), fornecem uma tabela com valores normativos expressos em percentil para o $\dot{V}O_{2máx}$ em mililitros por quilograma de peso por minuto ($mL.kg^{-1}.min^{-1}$) com referências específicas à idade e gênero (anexo 1). Altos níveis de condicionamento cardiorrespiratório estão associados com altos níveis de atividade física habitual. Sendo assim, os valores de percentil de $\dot{V}O_{2máx}$ juntamente com o volume de

treino semanal dos indivíduos foram utilizados para categorizar os indivíduos em treinados e não treinados.

2.2.4. Ergoespirometria

De acordo com o Consenso Nacional de Ergometria da Sociedade Brasileira de Cardiologia (1995), a ergoespirometria se aplica hoje como auxiliar de inúmeras metodologias, entre elas, coleta de gases expirados no exercício para dosagem direta do consumo de oxigênio. É uma metodologia que acrescenta à ergometria convencional a ventilação pulmonar e variáveis de trocas respiratórias, permitindo avaliação mais objetiva da capacidade funcional, bem como a análise do limiar anaeróbio.

São empregados sistemas que compreendem analisadores de gases e dispositivos de medida de fluxo ventilatório, acoplados ao computador. Uma válvula de baixa resistência com duas vias é utilizada, uma das quais o indivíduo inspira o ar atmosférico e outra para coleta (análise) dos gases expirados. Ainda são empregados fatores de correção como o STPD (s*tandard temperature pressure dry*) e o BTPS (*body temperature pressure saturated*), permitindo que os valores obtidos possam ser comparados em qualquer situação de temperatura e pressão atmosférica.

A ergoespirometria propicia a localização de dois pontos referenciais denominados limiares ventilatórios.

2.2.5. Limiares ventilatórios

Para prescrição da intensidade do exercício, diversos estudos têm mostrado que a utilização de limiares é mais adequada que o consumo máximo de oxigênio (SIMON *et al.*, 1986; SCHNEIDER *et al.*, 1990; LUCÍA *et al.*, 2000), embora exista ainda muita polêmica

sobre aspectos fisiológicos, metodológicos e terminológicos empregados para identificar os limiares ventilatórios e metabólicos durante o exercício progressivo e sua aplicação na avaliação da capacidade para o trabalho prolongado de indivíduos saudáveis (DENADAI, 1995; RIBEIRO, 1995).

Através da observação de diferentes variáveis derivadas das medidas de trocas gasosas em um teste de cargas progressivas, é possível estimar os limiares ventilatórios. Tais variáveis incluem a ventilação ($\dot{V}E$), a produção de gás carbônico ($\dot{V}CO_2$), a razão de troca respiratória (RER ou R), a fração expirada de O_2 (FEO_2), a fração expirada de CO_2 ($FECO_2$), a pressão de O_2 no final da expiração ($P_{ET}O_2$), a pressão de dióxido de carbono no final da expiração ($P_{ET}CO_2$), o equivalente ventilatório para o O_2 ($\dot{V}E.\dot{V}O_2^{-1}$) e o equivalente ventilatório para o CO_2 ($\dot{V}E.\dot{V}CO_2^{-1}$). Uma vez que as curvas destas variáveis ventilatórias permitem a identificação de dois limiares por refletirem os mesmos fenômenos fisiológicos, quando o sistema de ergoespirometria computadorizada é utilizado, o primeiro limiar ventilatório ou limiar aeróbio (LA) ou ainda de acordo com Wasserman (1994, p.28) e Wasserman *et al.* (1994) limiar anaeróbio, pode ser identificado quando ocorre um aumento do $\dot{V}E.\dot{V}O_2^{-1}$ e do $P_{ET}CO_2$ ou $FECO_2$ sem um aumento do $\dot{V}E.\dot{V}CO_2^{-1}$. Quando determinado desta forma, o LA apresenta boa reprodutibilidade e correlaciona-se bem com o primeiro limiar de lactato. O segundo limiar ventilatório ou limiar anaeróbio (LAn) ou ainda de acordo com Wasserman (1994, p.28) e Wasserman *et al.* (1994), ponto de compensação ventilatória para acidose metabólica, pode ser identificado quando ocorre perda da linearidade da relação entre $\dot{V}E$ e $\dot{V}CO_2$ ($\dot{V}E.\dot{V}CO_2^{-1}$), juntamente com o maior valor de $P_{ET}CO_2$ ou $FECO_2$, precedendo sua queda abrupta, critério também válido e com

boa reprodutibilidade (SIMON *et al.*, 1986; SCHNEIDER *et al.*, 1990; DENADAI, 1995; RIBEIRO, 1995; LUCÍA *et al.*, 2000).

A definição de limiar ventilatório proposta por Brooks (1985) diz que, inicialmente, durante um teste progressivo, a ventilação ($\dot{V}E$) irá aumentar linearmente com os incrementos na carga de trabalho. Eventualmente, contudo, haverá uma carga de trabalho na qual a $\dot{V}E$ irá aumentar não linearmente. Esta carga de trabalho é denominada de limiar ventilatório (LV) ou ponto de quebra da ventilação. O LV também tem sido chamado de limar anaeróbio (neste caso o LAn).

2.2.6. Ventilação

Em repouso, a ventilação ($\dot{V}E$) pode variar entre 23 e 28 litros de ar por litro de oxigênio consumido, o que muda muito pouco durante um exercício moderado como a caminhada. Quando a intensidade de trabalho é aumentada até próximo do máximo, a $\dot{V}E$ pode ser bem maior que 30, refletindo um aumento na ventilação que é desproporcional ao consumo de oxigênio. Quando a carga de trabalho excede 55 a 70% do $\dot{V}O_{2máx}$, a liberação do oxigênio aos músculos é insuficiente para suportar a necessidade energética requerida via oxidação. Para compensar, mais energia é derivada da glicólise, resultando num aumento na produção e acumulação de ácido lático. Este ácido lático se combina com bicarbonato de sódio e forma lactato de sódio, água e dióxido de carbono. O aumento no dióxido de carbono estimula os quimioreceptores, amplificando os sinais ao centro respiratório para aumentar a ventilação. Desde que isto ocorra sem um igual incremento no consumo de oxigênio, há um aumento desproporcional no valor de R, produção de gás carbônico, e ventilação. A carga de trabalho em que ocorrem estas mudanças é chamada de limiar de lactato, que reflete a acumulação de lactato quando sua produção e difusão

excedem sua taxa de remoção e demonstra o nível de estresse imposto pelo exercício, e fornece uma ferramenta objetiva para monitorar os estresses e adaptações ao treinamento (WILMORE, 1993, p.51).

Discordando destas teorias, diversas investigações tem mostrado que não existe uma relação de causa-efeito entre os fenômenos de limiar ventilatório (LV) e limiar de lactato (LLa). Como exemplo pode ser citado o trabalho de Astorino (2000), onde a relação entre LV e LLa foi moderada (r = - 0,55). O autor observou que o LLa ocorreu a 62% do $\dot{V}O_2$pico e o LV a 76% do $\dot{V}O_2$pico.

Motivos para explicar uma ausência de coincidência entre o LV e o LLa incluem (a) o tipo de protocolo de teste máximo utilizado; (b) a disponibilidade dos substratos energéticos; (c) nível de treinamento. Como exemplo para estes motivos podemos citar (a) McLellan (1992) utilizando protocolos diferentes para identificar o $\dot{V}O_{2máx}$ (inicia o teste com 30W e aumenta 30W a cada minuto) e o limiar de lactato (inicia o teste com uma carga de 60W e aumenta 30W a cada 4 minutos). A diferença principal encontra-se no tempo de duração de cada estágio. (b) Hughes *et al.* (1982) verificaram que a realização do exercício com depleção de glicogênio afetava tanto o LLa quanto o LV. (c) Simon *et al.* (1986) observaram que em indivíduos treinados o LV ocorria junto ao LLa, mas nos indivíduos não treinados o LV ocorria em uma carga de trabalho menor que o LLa. Os resultados sugerem que uma variação na difusão de lactato e/ou os processos de remoção entre indivíduos treinados e não treinados podem ser responsáveis em parte pelas diferentes relações entre os limiares em cada população.

Ribeiro (1995), salienta muito bem a importância do leitor saber interpretar a terminologia utilizada nos trabalhos, pois enquanto as escolas escandinava e alemã tratam o

limar anaeróbio como segundo limiar, os trabalhos americanos referem-se geralmente ao primeiro limiar.

2.3. EXERCÍCIO FÍSICO E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Durante a atividade muscular, a demanda energética pode superar em 35 vezes a demanda de repouso (ASTRAND, 1977). Dessa forma, durante a sua realização ocorre um grande aumento no consumo de oxigênio, na sua maior parte em decorrência do aumento de trabalho muscular. Pelo fato de as ERO serem produzidas através do metabolismo intermediário, o exercício provoca aumento da sua produção. Como exemplo, imaginemos um homem adulto de 70kg, que em repouso utiliza 3,5 mL $O_2.kg^{-1}.min^{-1}$ ou 352,8 $L.d^{-1}$ ou 14,7 $mol.d^{-1}$. Se 1% gera $O_2^{\bullet-}$, isto significa 0,147 $mol.d^{-1}$ ou 53,66 $mol.ano^{-1}$ ou $\cong$ 1,7 $kg.ano^{-1}$ (de $O_2^{\bullet-}$). Já durante o esforço físico, com o aumento do consumo de O_2, isto pode aumentar de dez a quinze vezes (HALLIWELL, 1999, p.34).

Além disso, durante o exercício exaustivo, ocorre a degradação de adenosinatrifosfato (ATP), indicada pela liberação de xantina e hipoxantina do músculo esquelético. A enzima xantina oxidase (XO) presente no músculo esquelético pode gerar radicais superóxido na presença de hipoxantina e oxigênio. Então, quando os produtos da degradação do ATP se acumulam, a XO pode gerar radicais livres (HEUNKS *et al.*, 1999). Ao inibir a XO com o alopurinol, há redução do estresse oxidativo e dano muscular associado ao exercício exaustivo em humanos (VIÑA *et al.*, 2000).

Sendo assim, durante o metabolismo aeróbio, a possibilidade de ocorrer lesão oxidativa nos tecidos vai depender de um preciso equilíbrio entre a geração de radicais de oxigênio e a eficácia dos mecanismos antioxidantes.

A literatura possui relatos conflitantes no que se refere à possibilidade de a lesão muscular subcelular ser causada por uma única carga de trabalho exaustivo.

De acordo com Ebbeling (1989), o aumento na produção de ERO causado pelo exercício de alta intensidade irá produzir dano tecidual e este irá ocorrer na fibra muscular do tipo I. Na mesma revisão as autoras citam o trabalho de Kanter *et al.* (1988) onde foi mensurado o MDA e a enzima creatinafosfoquinase (CK) sangüínea de corredores após uma prova de 80 km, encontrando uma correlação significativa entre MDA (lipoperoxidação) e CK (dano muscular).

Dillard *et al*. (1978) foram os primeiros a mostrar que o pentano (gás formado durante a LPO) estava aumentado no ar expirado em indivíduos que se haviam exercitado a 50% do $\dot{V}O_{2máx}$. Balke *et al.* (1984), relataram fato semelhante.

Deev *et al*. (1983) encontraram um aumento de LPO em animais submetidos a três horas de natação ou à administração de adrenalina. Davies *et al*. (1982), encontraram um aumento da LPO nos músculos das pernas dos ratos exercitados e uma forte correlação entre aumento de ERO e lesão na mitocôndria e no retículo sarcoplasmático.

A LPO iniciada por RL após exercício de resistência aeróbia, diminui a função de barreira das membranas celulares e pode estar associada com necrose da fibra muscular e liberação de enzimas musculares. Ebbeling (1989), propõe que o aumento na LPO vista nos exercícios de resistência aeróbia poderia ser explicado pelo aumento nos níveis sangüíneos de catecolaminas, elevação da temperatura corporal e taxa aumentada de auto oxidação da hemoglobina, ao invés do aumento de ERO decorrentes da aumentada taxa de utilização de oxigênio.

Brady *et al*. (1978) encontraram um significativo incremento da concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) imediatamente após 10 minutos de corrida. O ácido tiobarbitúrico (TBA) é uma substância que reage com o MDA e outros produtos da LPO, evidenciando, através de uma coloração rósea medida espectrofotometricamente, o nível de LPO e, conseqüentemente de lesão ocorrida. Kanter *et al*. (1986), estudando ultramaratonistas, encontraram uma significativa correlação entre os níveis de TBARS e as enzimas marcadoras de dano muscular CK e lactatodesidrogenase (LDH) no plasma, determinando ainda que a concentração de TBARS e a atividade dessas enzimas aumentavam principalmente após 50 milhas de corrida. Child *et al*. (1998) encontraram que mesmo com o aumento sangüíneo da capacidade antioxidante total (TRAP) durante uma meia maratona, não foram prevenidas a peroxidação lipídica induzida pelo exercício e o dano muscular, pois o MDA e a CK estavam aumentados após o exercício. Lovlin *et al*. (1987), no estudo com diversas intensidades de esforço, encontraram significativa correlação entre o lactato e as concentrações de TBARS no plasma. Os pesquisadores encontraram ainda uma diminuição do TBARS em exercício realizado em intensidade de 40% do $\dot{V}O_{2máx}$, sugerindo uma menor LPO em exercício submáximo. Entretanto, já em 1966, Racknagel e Ghoshal demonstraram que alguns tecidos podem consumir MDA, o que permite deduzir que, em baixas intensidades, o consumo de MDA poderia estar aumentado em relação à sua produção, e, somente em exercícios de alta intensidade, sua produção ultrapassaria a remoção.

De acordo com Halliwell, 1999, o teste do TBA é um dos mais antigos e mais freqüentemente usados para medir a peroxidação dos ácidos graxos de membranas e alimentos. É também um dos métodos mais criticados, embora quase todo cientista que

trabalha nessa área o use. Sabe-se que 98 % do MDA que reage no teste não estava presente na amostra inicial medida, e sim foi formado pela decomposição de peróxidos lipídicos durante o estágio de aquecimento do método. Sendo assim, o teste amplifica a peroxidação e a subseqüente formação de MDA. De acordo com isso, Balakrishnan (1998), posiciona-se dizendo que o balanço GSH/GSSG sangüíneo pode ser um determinante mais efetivo em medir as mudanças relacionadas ao EO do que os níveis de LPO expressos por TBARS.

Em uma outra linha de trabalho, Macha *et al*. (1990) observaram uma diminuição na capacidade geradora de peróxido de hidrogênio pelos neutrófilos, induzida pelo exercício agudo, o que explica, em parte, a baixa resistência dos atletas contra infecções.

Devido ao exposto, poder-se-ia pressupor que repetidas cargas de exercício levariam a um dano cumulativo e a um envelhecimento acelerado do músculo, em indivíduos que se exercitam regularmente. Entretanto Gutteridge *et al*. (1985), encontraram um incremento nos níveis de ferro e cobre no suor de atletas após o exercício, indicando um mecanismo de proteção contra LPO iniciada pelas reações de Fenton e Haber-Weiss, ambas assistidas por aqueles metais. Além disso, Heath *et al*. (1981), depois de acompanharem atletas durante muitos anos, verificaram que o potencial metabólico e a capacidade funcional muscular dos atletas não eram prejudicados, o que levantou a possibilidade de que o exercício regular pudesse promover um aumento adaptativo dos mecanismos de defesa do músculo esquelético capaz de proteger contra as lesões produzidas pelas ERO.

Em 1996, Niess *et al.*, demonstraram a ocorrência de dano ao DNA nos leucócitos circulantes após exercício exaustivo em esteira. Pela primeira vez isto foi mostrado em indivíduos treinados, mas como a extensão do dano foi pequena, os autores sugerem que a adaptação ao treinamento de resistência aeróbia pode reduzir os efeitos do EO, como o dano ao DNA.

Ji (1992) demonstrou que, em músculo esquelético, uma carga isolada de trabalho exaustivo produzia um aumento de LPO e que a atividade das enzimas GPx, GR, SOD e CAT estavam significativamente aumentadas. Alessio (1993) cita um aumento de LPO em fibras musculares lentas e rápidas de ratos submetidos a cargas de exercício, indicando um aumento do estresse oxidativo induzido pela atividade física. Esse estresse era melhor tolerado por ratos treinados, sugerindo uma adaptação dos sistemas antioxidantes.

Diversos autores têm discutido a proteção induzida pelo treinamento. Margaritis *et al*. (1997) propuseram que a magnitude da melhora do sistema de defesa AO depende das cargas de treinamento. Davies *et al.* (1982), propuseram que os radicais livres produzidos pelo exercício pudessem ser o estímulo inicial para a biogênese mitocondrial em uma situação de treinamento crônico. Leewenburgh *et al.* (1997), acrescentam que o estresse oxidativo induzido pelo exercício (EOIE) pode disparar adaptações em resposta ao treinamento, e que tais adaptações seriam tecido-específicas, sugerindo um mecanismo regulatório complexo.

No trabalho de Mills *et al*. (1996), com cavalos de corrida, os resultados mostraram que o exercício pode induzir mudanças nos parâmetros bioquímicos que são indicativos de estresse oxidativo, e que estes são exacerbados na presença de altas temperaturas e umidade. Leaf *et al*. (1997), sugerem que em indivíduos saudáveis o exercício físico induz a peroxidação lipídica transitoriamente, e que existe remoção dos produtos da LPO durante a fase de recuperação.

Dentre os parâmetros bioquímicos, o sistema da glutationa e suas enzimas relacionadas tem recebido grande atenção no que se refere a trabalhos relacionando-a ao exercício (JENKINS, 2000). O trabalho de Sen *et al.* (1994), com ratos deficientes em GSH mostrou 50% de redução na capacidade de resistência aeróbia, o que sugere um crítico

papel da GSH endógena em evitar o EOIE e também como determinante do desempenho físico.

Sen, (1999) sabendo que cães são naturalmente mais dotados para corridas do que ratos estudou cães Beagle em um treinamento de 40 semanas, correndo 40 km ao dia, cinco dias na semana. As mudanças induzidas pelo treinamento nos componentes do metabolismo da GSH foram mais pronunciadas no músculo gastrocnêmio, o qual é predominantemente oxidativo em sua composição. Após, testando cães Beagle novamente, só que agora imobilizando uma das patas dos animais por 11 semanas, Sen observou que a inatividade física crônica não influenciou a atividade das enzimas dependentes de GSH, mas os níveis de GSH total do músculo gastrocnêmio imobilizado estavam bastante reduzidos.

Estudando humanos, Child *et al.*, (1998) submeteram indivíduos treinados a uma prova de meia maratona simulada, e observaram através da medida do TRAP e do ácido úrico uma maior habilidade *scavenger* sobre os RL do soro. Mas mesmo assim o exercício induziu a um aumento das concentrações de MDA, sugerindo que tais respostas foram insuficientes para prevenir a LPO induzida pelo exercício.

Considerando um grupo de triatletas treinados, quanto mais alto o $\dot{V}O_{2máx}$, mais alta a atividade da enzima GPx nos eritrócitos. As altas capacidades para consumir oxigênio e conseqüentemente para produzir maiores quantidades de ERO, estão acompanhadas por alta atividade de GPx e altas concentrações de glutationa, protegendo o organismo da LPO e do dano à membrana celular (MARGARITIS *et al.*, 1997).

Halliwell (1999) coloca que atletas treinados têm altas concentrações de ceruloplasmina no plasma; a ceruloplasmina é parte da defesa antioxidante extracelular, pois liga íons cobre evitando que catalisem as reações de Fenton ou Haber-Weiss.

O trabalho de Venditti (1997), investigou ratos adultos submetidos a um programa de treinamento regular com duração de um ano, comprovando a hipótese de que tal treinamento prolonga a capacidade de resistência aeróbia e aumenta as defesas AO limitando assim o dano tecidual causado por RL.

De acordo com Kondo *et al.* (1992), o estresse oxidativo tem sido implicado na patogênese da atrofia muscular. O estudo de Appel *et al.* (1997) investigou se o EO contribui para o desenvolvimento da atrofia em músculos imobilizados, e se a administração de um AO teria efeito benéfico atenuando a atrofia por imobilização. Eles observaram que havia o mesmo conteúdo de GSSG (dissulfeto de glutationa) no grupo controle e no grupo imobilizado, mas quando os animais recebiam um suplemento de vitamina E, tanto o grupo controle quanto o imobilizado possuíam redução significativa no conteúdo de GSSG. O grupo imobilizado sem suplementação teve 35 % de atrofia comparado a 12 % de atrofia no grupo que recebeu vitamina E. Os autores sugerem que o tratamento com vitamina E possa ser útil não somente antes ou durante o período de imobilização, mas especialmente durante a fase de recuperação ativa, pois um EO secundário é esperado nesse momento, devido às alterações musculares em relação à diminuição da densidade mitocondrial e da perda da capacidade respiratória de tais mitocôndrias, além da redução da capacidade AO muscular decorrentes do período de inatividade.

Em 1997, Packer mostra que uma grande quantidade de trabalhos sugerem que um reforço nas defesas antioxidantes pode melhorar o dano induzido pelo exercício, sugerindo que os benefícios da intervenção antioxidante apliquem-se para os exercícios de longa duração e não para os de curta duração.

Os antioxidantes são membros de um grupo heterogêneo de substâncias químicas, e é da maior importância que as tentativas de intervenção pudessem incluir uma mistura de AO ao invés de um AO isolado, com o objetivo de otimizar o potencial AO e melhorar a capacidade de resistência aeróbia nos atletas. Os componentes da mistura deveriam ser estabelecidos após avaliação dos requerimentos da cadeia de reações antioxidantes e monitoração dos índices bioquímicos e fisiológicos dos indivíduos (BALAKRISHNAN, 1998).

Segundo Marzatico *et al*. (1997), os exercícios de curta e longa duração sobrepujam a nossa capacidade de detoxificar as ERO, produzindo estresse oxidativo, e o uso de um adequado suplemento de antioxidantes pode ser apropriado. Jenkins (2000) discorda, afirmando que existem poucos dados disponíveis para sugerir que uma suplementação de antioxidantes seja necessária ou aconselhável.

Já em 1988 Jenkins afirmava que os trabalhos em humanos que avaliassem o efeito do exercício na LPO no sangue eram escassos. Em 2000, o mesmo autor publica um artigo de revisão da literatura onde mostra os resultados de uma pesquisa utilizando o banco de dados MEDLINE no período de 1985 a 2000, confirmando a escassez de trabalhos envolvendo estresse oxidativo e exercício físico (menos de 1% das citações), e sugere que mais pesquisas sejam feitas, comparando intensidades de trabalho, níveis de treinamento, tipos de dieta ou ainda, utilizando técnicas mais adequadas de avaliação de estresse oxidativo. Ele também expõe o fato de que a maioria das pesquisas que relacionam o EO ao exercício estuda modelos animais, em função das técnicas basearem-se em procedimentos invasivos, e sugere o desenvolvimento de técnicas mais modernas, menos invasivas ou minimamente invasivas que permitam aos pesquisadores expandí-las em populações humanas.

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1. Delineamento da Pesquisa

O estudo é de delineamento transversal, descritivo comparativo, do tipo *ex-post-facto* e de caráter quantitativo.

3.2. População e Amostra

A população em estudo foi composta por dezessete indivíduos do sexo masculino, com idade entre 20 e 30 anos, saudáveis, não fumantes, divididos em dois grupos:

Treinado – composto por oito triatletas da elite e da categoria de idade, da cidade de Porto Alegre e arredores.

Não treinado – composto por nove alunos dos cursos de graduação e pós-graduação da Escola de Educação Física (ESEF) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

A amostragem foi do tipo não probabilística (intencional), e cada grupo foi seu próprio controle (pré e pós-teste).

3.3. Instrumentos de Medida

Foram utilizados os equipamentos dos laboratórios de fisiologia e bioquímica do Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da UFRGS e do Laboratório de Espécies Ativas de Oxigênio (LEAO) do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da UFRGS.

3.3.1. Ficha de dados individuais

Para controle dos dados utilizou-se uma ficha que incluía: nome do sujeito, data de nascimento, telefone, e-mail, história do sujeito (em relação a doenças, uso de

medicamentos e/ou suplementos alimentares, tabagismo), freqüência e duração semanal das atividades físicas, dados antropométricos como massa corporal, estatura e medidas de dobras cutâneas (tríceps, subescapular, abdominal, coxa, suprailíaca, peitoral e axilar).

3.3.2. Balanças

1 – Para determinação da massa corporal foi utilizada uma balança eletrônica, modelo PS - 180 da marca URANO, RS/Brasil, com carga máxima de 180 kg e resolução de 100g.

2 – Para pesagem do carboidrato em pó foi utilizada uma balança eletrônica, modelo HM 1000 da marca HELMAC, SP/Brasil, com resolução de 100mg.

3 – Para equilibrar os tubos de sangue antes de colocar na centrífuga refrigerada, foi utilizada uma balança de equilíbrio, marca Marte.

3.3.3. Compasso de dobras cutâneas

Para medição das dobras cutâneas, foi utilizado o compasso *slim guide* com resolução de 1mm.

3.3.4. Fita métrica

Para localização das medidas de dobras cutâneas foi utilizada uma fita métrica de metal de 2m de comprimento, marca Lufkin, com resolução de 1mm.

3.3.5. Estadiômetro

Para medir a estatura utilizou-se um estadiômetro constituído por escala métrica, na qual desliza um cursor que mede a estatura do indivíduo na posição de pé. A escala é fixa a uma base apoiada no solo, com resolução de 1mm.

3.3.6. Programa de nutrição

Para calcular o registro alimentar foi utilizado o programa de apoio à nutrição do centro de informática em saúde da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de

São Paulo, versão 2.5. As tabelas de alimentos utilizadas no programa são do Departamento de Agricultura Norte Americano. Além disso, incluímos dados da tabela de composição química dos alimentos (FRANCO, 1997), da tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras (PINHEIRO *et al.*, 1994) e adição de alguns alimentos regionais.

3.3.7. Eletrocardiógrafo

Os indivíduos foram monitorados eletrocardiograficamente na derivação CM5 através de um monitor FUNBEC, modelo 4-1 CN. O sinal eletrocardiográfico analógico foi transferido para o sistema ergoespirométrico através de cabo e utilizado para cálculo da freqüência cardíaca.

3.3.8. Espirômetro (analisador de gases)

Foi utilizado um analisador de gases modelo MGC CPX/D da *Medical Graphics Corporation* (St. Paul, EUA).

3.3.9. Esteira rolante

Os testes foram realizados em esteira rolante marca *Quinton Instruments*, Seatle, USA.

3.3.10. Centrífuga refrigerada

Uma centrífuga de mesa refrigerada modelo PK 120-R, marca ALC *International* SRL, Milão, Itália, foi utilizada para separar o plasma e elementos figurados, e para lavagem dos glóbulos para posterior preparo e armazenamento.

3.3.11. Geladeira

Para refrigerar as amostras sangüíneas antes do transporte, foi utilizada uma geladeira Consul Pratice 410 Biplex.

3.3.12. Contador beta

O contador LKB *Wallac Rack Beta Liquid Scintillation Counter* – 1209; LKB *producter* AB, Bromma, Suécia, foi utilizado para as medidas de quimiluminescência e capacidade antioxidante total. O circuito de coincidência foi desconectado e utilizado o canal de trítio.

3.3.13. Espectrofotômetro

O espectrofotômetro UV-*Visible Spectrophotometer – Cary* 1E, foi utilizado para todas as mensurações das enzimas antioxidantes e das concentrações de proteína e hemoglobina.

3.4. Projeto do Experimento

A metodologia conhecida como projeto de experimentos foi introduzida por Fischer em 1935 e inicialmente aplicada a experimentos de agricultura. Posteriormente, essa metodologia difundiu-se rapidamente em campos como Agronomia, Biologia, Engenharia Química, Engenharia Industrial e Engenharia da Qualidade. Atualmente, projeto de experimentos tem sido aplicado virtualmente em todas as áreas de conhecimento (RIBEIRO, 2000).

De acordo com Montgomery (1991) um projeto de experimento é um teste ou uma série de testes na qual propositadamente mudanças são feitas nas variáveis de entrada de um processo para que possamos observar e identificar as razões para as mudanças nas variáveis de resposta. O objetivo é desenvolver um processo robusto, ou seja, um processo afetado minimamente por fontes externas de variabilidade.

3.4.1. Etapas do experimento

Primeiro foram listados as variáveis de resposta, os parâmetros do processo e os fatores não controláveis.

3.4.1.1. Variáveis de resposta

Características em análise que podem ser medidas e quantificadas.

As variáveis de resposta foram quimiluminescência, capacidade antioxidante total, e enzimas glutationa peroxidase, superóxido dismutase e catalase.

3.4.1.2. Parâmetros do processo

Fatores que podem ser alterados e que talvez tenham um efeito sobre as variáveis de resposta.

Os parâmetros do processo foram intensidade do exercício, duração do exercício, nível de condicionamento físico, idade, alimentação pré-teste, fumo, estado de saúde e sexo.

3.4.1.3. Fatores não controláveis

São as variáveis que não podem ser controladas pela equipe técnica e são responsáveis pelo erro experimental (variabilidade).

Os fatores de ruído conhecidos incluíam:

- os hábitos alimentares do indivíduo;
- o tipo de treinamento (short triatlo, triatlo olímpico e *ironman*);
- continuidade dos treinos durante o período da pesquisa;
- variabilidade inata ao ser humano.

Num segundo momento foram atribuídas intensidades (valores numéricos numa escala de 0 a 10) para a importância relativa de cada variável de resposta (IEi). Também

foram atribuídas intensidades para as relações entre parâmetros do processo (X) e variáveis de resposta (Y). Com estes dados montamos a matriz de relacionamentos (tabela 2) e calculamos a média ponderada (Rij) dos parâmetros do processo para fazer a priorização.

O formulário para os cálculos foi o seguinte: $K1 = \sum_{i} Rij \times IEi$

Onde:

Rij = relação entre a variável de resposta i e o fator controlável j

IEi = índice de importância para a variável de resposta i

K1 = média ponderada

Tabela 2 – Matriz de relacionamentos

i \ j	IEi	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8
Y1	9,5	10	9	10	9	9	10	10	8
Y2	10	10	8,5	8	8	10	9	10	8
Y3	9	9	9,5	10	9,5	3	7	10	1
Y4	9	9,5	9,5	10	10	3	7	10	1
Y5	8	9	9,5	10	9,5	3	7	10	1
	K1	86,7	83,5	87	83,4	52,7	73,4	91	36,4

Onde:

X1 = intensidade do exercício

X2 = duração do exercício

X3 = nível de condicionamento

X4 = idade

X5 = alimentação pré-teste

X6 = fumo

X7 = estado de saúde

X8 = sexo

} Parâmetros do processo

Y1 = quimiluminescência

Y2 = capacidade antioxidante total

Y3 =enzima glutationa peroxidase

Y4 =enzima superóxido dismutase

Y5 = enzima catalase

} Variáveis de resposta

Sabendo a média ponderada foi possível priorizar os fatores controláveis (do mais importante ao menos), da seguinte maneira:

1 – estado de saúde

2 – nível de condicionamento

3 – intensidade do exercício

4 – duração do exercício

5 – idade

6 – fumo

7 - alimentação pré-teste

8 – sexo

Neste estudo, não fez parte dos objetivos estudar indivíduos que não fossem saudáveis. Apesar de ter sido considerado como fator mais importante, resolvemos deixar o estado de saúde como constante.

Em relação ao sexo optamos por estudar indivíduos do sexo masculino, pois conforme Chung *et al.* (1999), indivíduos do sexo feminino podem estar mais bem protegidos do EOIE, devido aos estrógenos, que possuem características antioxidantes. Além disso, o número de triatletas do sexo feminino em Porto Alegre é reduzido.

3.4.1.4. Restrições experimentais

Foram listadas ainda as restrições experimentais para ajudar na decisão do número de observações a realizar.

- Os testes de carga fixa com no máximo 40 minutos de duração foram realizados sempre no turno da manhã, pois a análise da quimiluminescência, da hemoglobina e o preparo do sangue para congelamento tinham de ser realizados no mesmo dia da coleta sangüínea.
- Realizar no máximo quatro testes por manhã.
- Tempo para análise de cada variável de resposta em torno de um turno para cada 20 amostras sangüíneas.

3.4.1.5. Fatores controláveis (variáveis independentes)

A - Condicionamento físico: treinado e não treinado (dois níveis).

B - Intensidade do exercício: LV1, LV2 e AnM (três níveis).

C - Número de análises sangüíneas com exercício: antes e depois (dois níveis).

3.4.1.6. Fatores constantes

Idade: entre 20 e 30 anos

Estado de saúde: saudável

Sexo: masculino

Fumo: não fumantes

Alimentação: refeição padrão antes do teste

A partir de todos estes dados foi possível elaborar a matriz experimental (tabela 3), utilizando a seguinte fórmula:

N = n.a.b.c.

Onde: o número de repetições (n) foi determinado pelo número de atletas voluntários que puderam participar do experimento (n=8).

a = número de níveis do fator A

b = número de níveis do fator B

c = número de níveis do fator C

N = número total de observações

N = 8.2.3.2

N = 96

Observação: no grupo não treinado houve nove participantes, sendo assim o verdadeiro *N* foi de 102.

Tabela 3 - Matriz experimental

Treinado						Não treinado					
LV1		LV2		AnM		LV1		LV2		AnM	
antes	depois	antes	depois	antes	depois	antes	depois	antes	depois	antes	depois

A partir da matriz experimental, construída a partir dos três fatores controláveis, foi feito um estudo estatístico denominado projeto fatorial com três fatores, capaz de testar todas as combinações de níveis dos fatores.

O efeito de um fator é definido como a mudança média que aparece na resposta quando se muda o nível deste fator. É chamado de efeito principal.

A interação entre fatores ocorre quando a modificação nos níveis de um dos fatores depender do nível do outro fator (RIBEIRO, 2000).

3.5. Seqüência Experimental

Os voluntários foram informados do objetivo do estudo, dos riscos e eventuais desconfortos e assinaram um termo de consentimento, conforme descrito no anexo 2.

Na entrevista inicial, foi aplicado o PAR-Q, questionário sobre prontidão para atividade física (anexo 3), com o objetivo de excluir indivíduos que tivessem condição imprópria de participar do estudo. Num segundo momento através de anamnese, buscamos identificar eventuais condições que pudessem interferir nos resultados do estudo, como por exemplo, indivíduos fumantes e/ou em tratamento medicamentoso, ou ainda fazendo uso de suplementos de vitaminas e/ou minerais. Em caso positivo o indivíduo era excluído do grupo.

Nesta entrevista foi entregue aos indivíduos um registro alimentar de três dias (anexo 4) a ser preenchido e devolvido ao nutricionista no dia do teste máximo. Os sujeitos receberam orientação de não modificar sua alimentação, tampouco fazer uso de qualquer suplemento de vitaminas ou minerais durante o período dos testes.

Foram orientados a não consumir café ou bebidas alcoólicas e a não realizar exercícios físicos intensos nas 24 horas que antecediam os testes, e que se apresentassem trajando roupas e calçados adequados.

No dia do teste máximo foram mensuradas as dobras cutâneas, a massa corporal e a estatura dos indivíduos. O percentual de gordura foi calculado utilizando a fórmula proposta por Jackson (1978). A partir dos resultados do teste máximo foram determinadas as intensidades relativas dos próximos três testes submáximos. Foi fornecido o carboidrato

em pó para que os sujeitos ingerissem 1h antes dos testes submáximos ao invés do seu desjejum habitual. Nos testes submáximos o sangue era coletado antes e imediatamente após o exercício e preparado para posterior análise.

A realização dos testes foi de acordo com as possibilidades de horário dos participantes, sendo respeitada a ordem de execução dos testes, previamente definida por sorteio. Todos os testes foram realizados no turno da manhã, nos meses de dezembro de 2001 e janeiro de 2002.

Após o período de coleta de dados foi elaborada uma pasta com as informações referentes à composição corporal, consumo máximo de oxigênio, limiares ventilatórios e análise do registro alimentar e entregue aos indivíduos que participaram voluntariamente do estudo.

3.5.1. Percentual de gordura (%G)

O percentual de gordura dos sujeitos foi avaliado através da técnica de dobras cutâneas e utilizado para caracterizar os grupos.

Para o grupo treinado calculou-se o %G através da fórmula de sete dobras cutâneas de Jackson (1978). Como referência, atletas de resistência aeróbia como triatletas do sexo masculino tem tipicamente 6 a 11 % de gordura corporal (GARRETT, 2000).

Para o grupo não treinado calculou-se o %G através da fórmula de três dobras de Jackson (1978). Como referência, indivíduos não treinados do sexo masculino têm tipicamente 15% de gordura corporal (ACSM's Guidelines, p.67, 2000).

3.5.2. Inquérito alimentar

O registro alimentar de três dias foi calculado por nutricionista, a fim de identificar se os padrões alimentares atuais (ingesta calórica e distribuição de macronutrientes) estavam de acordo com a RDA (1989) e com suas necessidades individuais.

Para o teste máximo os sujeitos foram instruídos a ingerir seu café da manhã habitual, cuidando para não realizar o exercício em jejum, ou com intervalo pequeno entre o desjejum e o teste, tentando evitar qualquer desconforto ou mal estar durante o teste.

3.5.3. Alimentação pré-exercício

Sabe-se que ocorre uma depleção significativa nas reservas corporais de carboidratos após um período de 8 a 12 horas de jejum. O exercício pela manhã, após uma noite em jejum, requer uma alimentação prévia, mesmo que o indivíduo tenha hábitos regulares e saudáveis em sua alimentação. Fazer jejum antes de um exercício não tem sentido fisiológico, pois tal situação depleta rapidamente o glicogênio muscular e hepático, e prejudica o rendimento do exercício. Consumir carboidratos de alto índice glicêmico, rapidamente absorvidos, dentro de uma hora antes do exercício acelera a depleção do glicogênio e afeta o desempenho negativamente por contribuir com uma depleção do glicogênio e fadiga prematura. Pesquisas indicam que consumir glicose antes do exercício aumenta o consumo muscular de glicose, mas reduz o consumo de glicose hepática durante o exercício a um grau que pode conservar as reservas hepáticas de glicogênio. A discrepância entre as pesquisas não tem uma explicação clara. A refeição pré-exercício proporciona ao atleta energia adequada proveniente de carboidratos e assegura uma ótima hidratação. Em geral, três horas são suficientes para digerir e absorver uma refeição rica em carboidratos antes do exercício. As refeições líquidas são uma opção, pois podem ser mais rapidamente absorvidas, mesmo com altos índices glicêmicos, ingeridas dentro de uma hora antes do exercício e obter os mesmos efeitos. Uma bebida que contenha polímeros de glicose, como a maltodextrina, ao invés de açúcares simples, minimiza os efeitos negativos da concentração de moléculas de açúcar no esvaziamento gástrico e mantém o volume

plasmático, pois facilita o movimento de água do estômago para o intestino delgado para a absorção (McARDLE *et al.*, 1996, p.69; KIRWAN *et al.*, 1998; SPARKS, *et al.*, 1998).

Sendo assim, antes dos testes de carga fixa os sujeitos ingeriram uma refeição padrão (previamente fornecida) composta por um grama de carboidrato em pó (Carb up, Probiótica) por quilograma de peso corporal. Eles foram orientados a diluir o pó em água, e ingerir esta refeição líquida uma hora antes do início do teste, ao invés do seu café da manhã habitual.

O carboidrato utilizado era composto de maltodextrina, frutose e glicose, nos sabores uva e laranja.

3.5.4. Testes na esteira rolante

3.5.4.1. Calibração do ergoespirômetro

Antes do início do primeiro teste da manhã, o equipamento de espirometria era ligado uma hora antes para aquecimento e estabilização das células de análise de gases. Em seguida procedia-se a calibração. Este procedimento foi adotado em todos os dias de teste. A calibração do ergoespirômetro incluiu procedimentos de calibração do pneumotacógrafo e do analisador de gases. Uma calibração completa foi realizada pelo menos uma vez por dia. Se as condições do teste fossem alteradas durante o dia por qualquer razão (i.e., alterações consideráveis na temperatura e/ou pressão atmosférica ou falta de energia elétrica), o procedimento completo era repetido.

Procedimentos:

1) Informação das condições ambientais: antes do início do processo de calibração foram informadas a temperatura ambiente, a pressão atmosférica e a umidade relativa do ar.

2) Calibração do volume no pneumotacógrafo: inicialmente foi feita eletronicamente pelo sistema a calibração do volume zero no pneumotacógrafo. Nesse momento era importante assegurar que não houvesse movimento do ar ou que se respirasse perto do pneumotacógrafo, podendo introduzir fluxo. Em seguida foi feita a calibração do volume com cinco injeções e ejeções de ar em diferentes velocidades através do pneumotacógrafo com uma seringa de três litros.

Calibração do analisador de gases: consistia no ajuste das concentrações de O_2 e CO_2 de acordo com as concentrações dos cilindros de referência (21 % O_2 e nitrogênio para balanço) e de calibração (12 % O_2, 5,09% CO_2, e nitrogênio para balanço), da empresa *Air Products*. Por último, foi feita a medida da *phase delay*, ou seja, a diferença de tempo entre a detecção do fluxo pelo pneumotacógrafo, praticamente instantânea, e as medidas das concentrações dos gases pelo analisador.

Durante os testes foram registrados os seguintes parâmetros: $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$, $\dot{V}E$, $P_{ET}O_2$, $P_{ET}CO_2$, RER, freqüência cardíaca, tempo e velocidade.

3.5.4.2. Familiarização:

Os indivíduos que nunca haviam se submetido a teste ergoespirométrico em esteira rolante passaram por um teste de adaptação aos equipamentos antes de iniciar o estudo.

3.5.4.3. Teste máximo:

Os indivíduos eram instruídos a fazer um breve alongamento antes do teste, e após a colocação dos aparatos de freqüência cardíaca e máscara de coleta de gases, ficavam sentados por aproximadamente 3 minutos antes do início do teste.

No primeiro dia do experimento foi realizado o teste de cargas progressivas, em esteira rolante, segundo protocolo em rampa. Tal protocolo foi escolhido, pois conforme

Lucía *et al*. (2000), torna mais fácil a visualização dos limiares ventilatórios quando os incrementos de carga são leves e graduais. O protocolo do teste máximo foi construído seguindo os critérios descritos por Thoden (1991). O incremento de carga foi diferenciado para os grupos. A velocidade inicial para ambos os grupos foi de 5 $Km.h^{-1}$, sendo que o grupo treinado sofria um incremento de 0,5 $Km.h^{-1}$ a cada vinte segundos, e o grupo não treinado 0,5 $Km.h^{-1}$ a cada trinta segundos, para determinação do consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_{2máx}$) e dos limiares ventilatórios. Os incrementos de carga foram suficientes para que o teste durasse de 8 a 14 minutos.

Os critérios utilizados para alcançar o $\dot{V}O_{2máx}$ (HSI *et al.*, 1998) foram:

- Através da solicitação voluntária do sujeito;
- Platô na curva de consumo de oxigênio;
- RER maior que 1,15.

3.5.4.4. Determinação dos limiares ventilatórios:

Esta técnica de estimativa foi escolhida em função de (a) não ser invasiva; (b) evitar a necessidade de presença dos indivíduos mais uma vez no laboratório para realizar outro protocolo máximo incluindo a medida do lactato sangüíneo.

O primeiro limiar ventilatório ou limiar aeróbio (LA), foi determinado através da análise computadorizada da equação de regressão entre $\dot{V}O_2$ e $\dot{V}CO_2$, conhecido como método da inclinação V (*V-slope*), conforme trabalho de Beaver *et al.* (1986). Quando o programa não foi capaz de detectar o LA, este foi determinado manualmente pelos observadores, seguindo a mesma metodologia.

O segundo limar ventilatório ou limiar anaeróbio (LAn), foi determinado usando o critério de aumento no equivalente ventilatório do oxigênio e do gás carbônico ($\dot{V}E.\dot{V}O_2^{-1}$ e $\dot{V}E.\dot{V}CO_2^{-1}$), com uma redução concomitante na $P_{ET}CO_2$.

Tanto o LA (quando necessário) e o LAn foram determinados por dois observadores independentes por inspeção visual nos gráficos impressos conforme as figuras 3, 4 e 5, os quais eram plotados em intervalos de 15 segundos em função do $\dot{V}O_2$. Quando a escolha do limiar diferia por mais de 15 segundos entre os investigadores, um terceiro investigador independente era consultado.

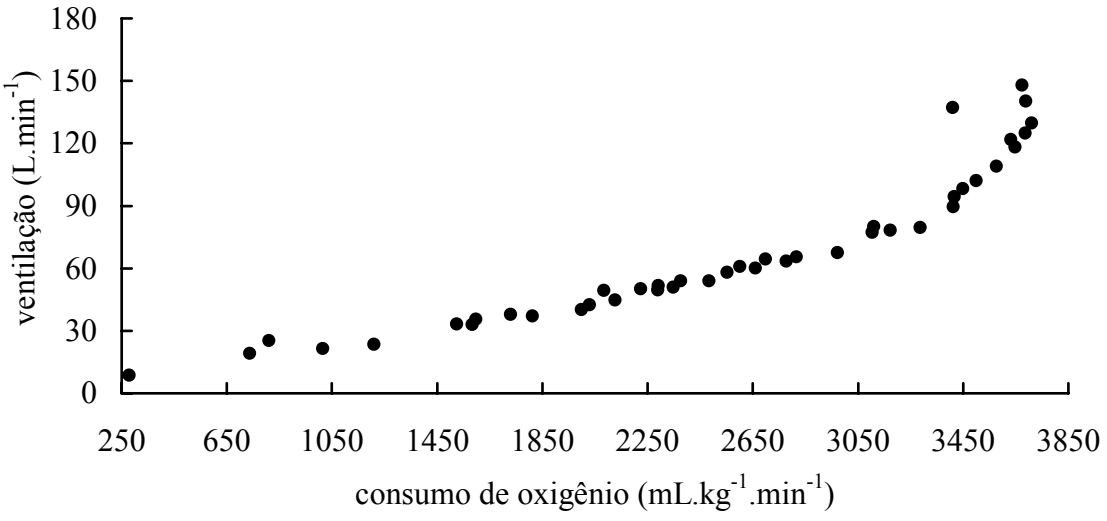

Figura 3 – Ventilação em relação ao consumo de oxigênio.

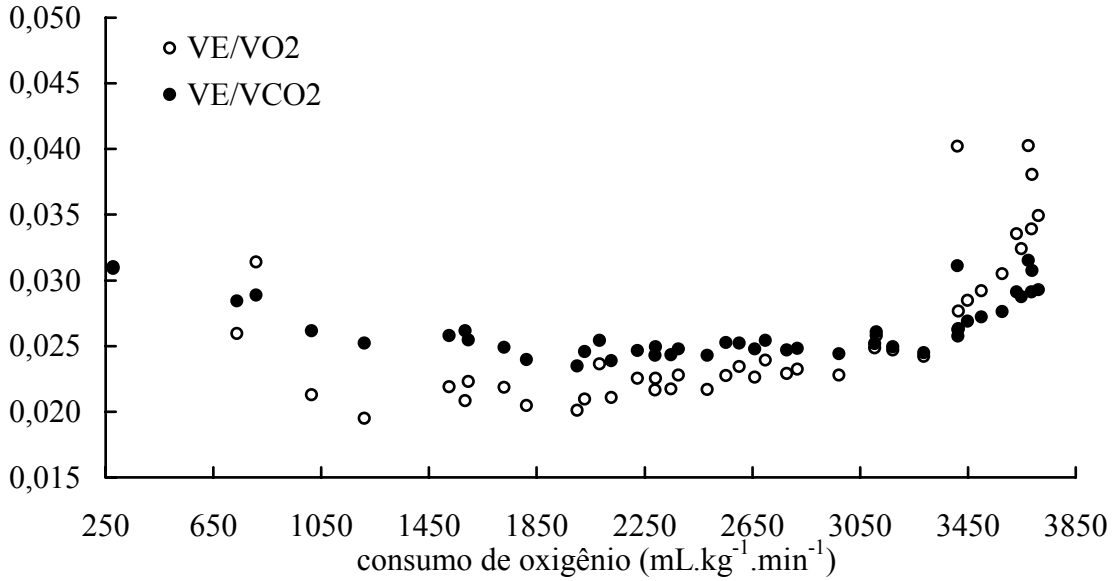

Figura 4 – Equivalentes ventilatórios do oxigênio e dióxido de carbono em relação ao consumo de oxigênio.

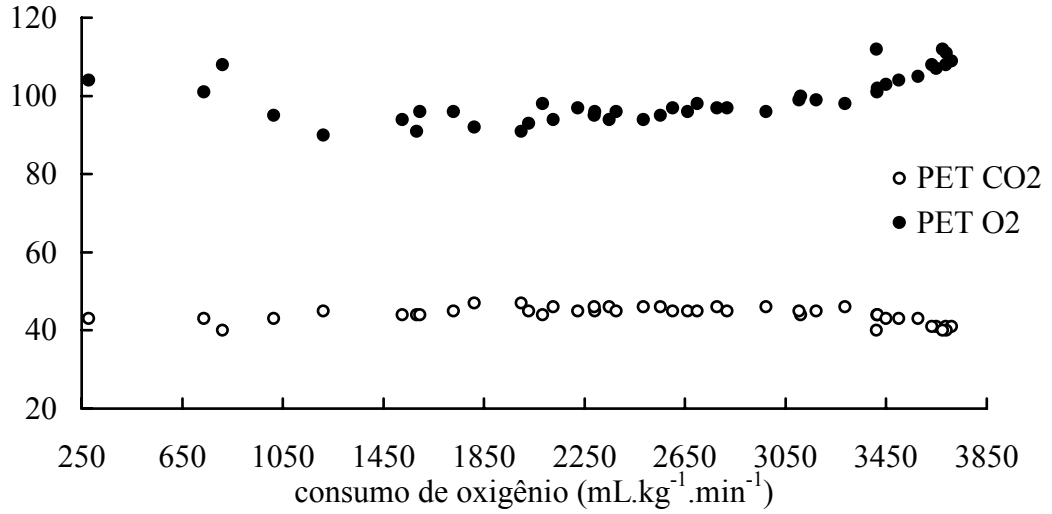

Figura 5 – Pressão de oxigênio e dióxido de carbono no final da expiração em relação ao consumo de oxigênio.

3.5.4.5. Testes de cargas fixas:

Nas semanas seguintes ao teste máximo, cada indivíduo retornou ao laboratório a fim de realizar outros três testes. As cargas de trabalho foram denominadas e determinadas da seguinte maneira:

LV1: correspondente a 10% abaixo do consumo de oxigênio do 1º limiar ventilatório;

LV2: correspondente a 10% abaixo do consumo de oxigênio do 2º limiar ventilatório;

AnM: intensidade média entre o 2º limiar ventilatório e o $\dot{V}O_{2máx}$.

Para transformar o consumo alvo em velocidade (carga), utilizamos a tabela de requerimento energético aproximado (anexo 5) conforme as diretrizes do *ACSM* (2000, p.307 e 308) e o seguinte raciocínio:

a) 1 MET (equivalente metabólico) equivale a 3,5 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$.
b) O valor em $mL.kg^{-1}.min^{-1}$ do consumo alvo era dividido pelo equivalente de 1 MET, originando o consumo em METs.
c) Com este valor buscou-se na tabela a velocidade correspondente em $km.h^{-1}$, sem inclinação. Desta forma, chegávamos à velocidade alvo inicial, considerada como 100%.

No dia do teste, a velocidade inicial era de 33% do $\dot{V}O_2$ alvo para o teste específico, mantida por 3 minutos. Então era aumentado a 66 e 100% do $\dot{V}O_2$ requerido aos 3 e 6 minutos, respectivamente (protocolo utilizado por RIBEIRO *et al.*, 1986). Os sujeitos foram encorajados a completar um tempo total de 40 minutos nos testes LV1 e LV2, e no AnM o máximo tempo que pudessem suportar. Sempre que necessário, ao longo

do teste, a velocidade da esteira era ajustada para que o consumo de oxigênio ficasse próximo ao alvo. Simultaneamente eram observados os dados metabólicos do indivíduo. Todos os indivíduos eram pesados antes e logo após cada teste, e sua massa corporal registrada.

Exemplo:

$\dot{V}O_2$ alvo = 32 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$

32 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$ ÷ 3,5 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$ = 9,1 METs

Pela tabela (anexo 5) temos que 9,1 METs correspondem a 8,6 $km.h^{-1}$ (100%). Nas situações em que os METs estavam entre uma velocidade e outra da tabela, a regra de três foi aplicada.

100% = 8,6 $km.h^{-1}$ (32 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$) , utilizando uma regra de três:

66% = 5,6 $km.h^{-1}$ (21,1 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$)

33% = 2,8 $km.h^{-1}$ (10,6 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$)

Desta forma obteve-se a velocidade e o consumo teórico relativo a cada intensidade.

Para calcular o consumo alcançado nos testes submáximos, foi feita a média do consumo de oxigênio após o período de estabilização inicial até o final do teste.

3.5.5. Coleta e preparo da amostra sangüínea

Nos dias dos testes de cargas fixas, os indivíduos foram orientados a chegar ao laboratório 15 minutos antes do teste, ficando em repouso até o início do teste.

Cada amostra sangüínea correspondia ao volume de 7 mL e foi obtida através de punção, com seringa descartável e esterilizada, na veia intermédia do antebraço. Como anti-

séptico foi utilizado álcool a 70%. Os 7 mL necessários eram coletados por um profissional capacitado e armazenados em frascos de plástico de 12 mL contendo 100 μL da solução anticoagulante EDTA a 10%.

As coletas sangüíneas foram realizadas da seguinte maneira: 1ª em repouso antes de iniciar o teste; 2ª imediatamente após o término do exercício.

Todas as seringas e agulhas foram descartadas em caixas de papelão especiais marca Descarpack, São Paulo/Brasil, com capacidade de 13 litros.

Após a coleta, o sangue foi centrifugado por 5 minutos a 1000 g (3000 rpm) para separação de plasma e elementos figurados. O plasma foi armazenado em tubos tipo *eppendorff* de 1,5 mL e resfriado para transporte. Foi mantido em freezer a −80°C, e utilizado para análise da capacidade antioxidante total (TRAP).

Os eritrócitos foram lavados e centrifugados três vezes com igual volume de solução fisiológica, 75 μL de glóbulos lavados foram diluídos em 500 μL de soro fisiológico para análise da QL e da concentração de hemoglobina. Ambas medidas foram realizadas no mesmo dia da coleta sangüínea. A concentração de hemoglobina foi utilizada para expressar os resultados da QL.

Seis tubos tipo *eppendorff* foram congelados a 80°C negativos com 100 μL de glóbulos lavados diluídos em 1 mL de solução de ácido acético 1 mM, sulfato de magnésio 4 mM, para posterior análise da proteína e das enzimas antioxidantes catalase, glutationa peroxidase e superóxido dismutase.

3.6. Descrição das técnicas de análise sangüínea

3.6.1. Quimiluminescência

A lipoperoxidação foi quantificada pelo método experimental da quimiluminescência, que se baseia na contagem da emissão de luz que substâncias radicais excitadas emitem para retornar ao seu estado fundamental.

O método consiste em adicionar-se hidroperóxido de tert-butila (t-BOOH) à amostra em estudo avaliando-se a capacidade de resposta da mesma, mediante a determinação da quimiluminescência produzida (LLESUY *et al*., 1990; GONZALEZ-FLECHA *et al*., 1991).

Fez-se a leitura em um contador beta, em sala escura com os viais mantidos na penumbra para evitar a fosforescência ativada pela luz fosforescente. Adicionou-se 10 μL dos glóbulos previamente preparados, em 4 mL de tampão fosfato 20 mM, 140 mM de cloreto de potássio (pH 7,4), e fez-se uma leitura inicial, considerada a emissão basal de luz do conjunto vial, tampão e amostra. Após a leitura basal, adicionou-se ao vial de cintilação 30 μL de t-BOOH 400 mM e observou-se a leitura até emissão máxima. Para fins de cálculo descontou-se a emissão basal da emissão máxima.

Os resultados foram expressos em contagens por segundo por miligrama de hemoglobina (cps.mg Hb^{-1}).

3.6.1.1. Hemoglobina

Para o cálculo da concentração de hemoglobina adicionou-se, em uma cubeta de plástico, 10 μL de glóbulos diluídos em 1 mL de solução de Drabkin* (composta por

cianeto de potássio - KCN e ferrocianeto de potássio - $K_3[Fe(CN)_6]$). Fez-se a leitura da absorbância no espectrofotômetro a 546 nanômetros (nm).

Os resultados foram expressos em miligramas por mililitros ($mg.mL^{-1}$).

*Solução de Drabkin:

- 0,85 mL da solução-mãe de KCN 9 mM;
- 6,6 mL da solução-mãe de $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,9 mM;
- q.s.p. 10 mL de água destilada.

3.6.2. Capacidade antioxidante total

A medida de capacidade antioxidante total (TRAP), de acordo com a técnica descrita por Lissi *et al*. (1995), é baseada na avaliação da capacidade antioxidante da amostra em comparação com os valores obtidos através do trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico), que é considerado antioxidante padrão.

A *curva de calibração* foi feita adicionando 3 mL de tampão AZO {2,2-azo-bis(2-amidinopropano)hidrocloruro} 20 mM-fosfato 50 mM (pH: 7,4) num vial de cintilação e agregando 10 μL de luminol (5-amino-2,3-dehidro-1-4-ftalazinediona) 5,6 mM. Fez-se a leitura basal no contador beta, observando se os valores iniciais estavam acima de 50.000 cps. Agregou-se então 2,5 ou 5 μL de trolox 320 μM (foram feitas duas curvas com quantidades diferentes de trolox) e fez-se leituras até que se tivesse obtido uma emissão semelhante à leitura basal.

Para a *análise da amostra* colocou-se 3 mL de tampão AZO 20 mM-fosfato 50 mM (pH: 7,4) num vial de cintilação, agregou-se 10 μL de luminol 5,6 mM e fez-se a leitura basal. Agregou-se então o plasma e mediu-se até a emissão máxima. As quantidades

de plasma utilizadas variaram de 10 a 35 μL, dependendo da amostra, e foram consideradas no cálculo final.

Os resultados foram expressos em micromolar de trolox (μM trolox).

3.6.3. Quantificação de proteínas

As proteínas foram quantificadas pelo método descrito por Lowry *et al.* (1951), que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1 $mg.mL^{-1}$.

Para realização deste ensaio foram utilizados os seguintes reagentes:

- Reativo de Folin Ciocaulteu diluído em água destilada na proporção de 1:3;
- Reativo C, que é composto por 50 mL do reativo A, 0,5 mL do reativo B1 e 0,5 mL do reativo B2, onde os reativos A, B1 e B2 são respectivamente:

  $NaHCO_3$ (bicarbonato de sódio) 2% em NaOH (hidróxido de sódio) 0,1 N;

  $CuSO_4.5H_2O$ (sulfato de cobre) 1%;

  $KNaC_4H_4O_6.4H_2O$ (tartarato de sódio e potássio) 2%.

Em tubos de ensaio, foram adicionados 20 μL de glóbulos vermelhos, previamente preparados para análise das enzimas, em 0,78 mL de água destilada e 2 mL de reativo C preparado a fresco, aguardando-se 10 minutos. Depois, adicionou-se 0,2 mL do reativo de folin ciocaulteu, os tubos foram agitados e aguardou-se mais 30 minutos. Após, a solução adquiria uma coloração azulada que foi medida no espectrofotômetro a 625 nm.

O cálculo foi feito utilizando-se um fator de correção médio calculado a partir da curva de calibração construída utilizando-se a solução padrão de albumina bovina. Todas as

amostras foram feitas em duplicata, e a média das absorbâncias utilizada nos cálculos dos resultados das enzimas.

3.6.4. Superóxido dismutase

A enzima superóxido dismutase (SOD) catalisa a dismutação do ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas, como a catalase e a glutationa peroxidase.

$$2\ O_2^{\bullet-} + 2H^+ \xrightarrow[SOD]{} H_2O_2$$

A técnica utilizada para determinação da SOD está baseada na inibição da reação de geração do radical superóxido a partir da auto-oxidação do pirogalol quando em meio básico. A SOD presente na amostra catalisa a reação e reduz a quantidade de $O_2^{\bullet-}$, assim há uma redução da absorbância no sistema de medição. Portanto, quanto maior a concentração de SOD na amostra, menor a auto-oxidação do pirogalol.

Neste ensaio, não se pode determinar a concentração da enzima nem sua atividade em termos de substrato consumido por unidade de tempo, por isso, se utiliza a quantificação em unidades relativas. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a velocidade de oxidação do pirogalol. A oxidação do pirogalol leva à formação de um produto colorido, detectado espectrofotometricamente a 420 nm. A atividade da SOD é determinada medindo-se a velocidade de formação do pirogalol oxidado (MARKLUND, 1985).

Para realização deste ensaio foram utilizados os seguintes reagentes:

- Solução tampão (tris-base na concentração de 50 mM; EDTA na concentração de 1 mM em pH 8,2);

- Pirogalol 24 mM (em ácido clorídrico a 10 mM);
- Enzima catalase a 30 μM.

Para se ter o resultado em unidade de SOD, necessita-se de um fator de calibração. Por isso, fez-se necessário a construção de uma curva padrão utilizando três concentrações distintas de SOD (0,25U, 0,5U e 1U), através da qual foi obtida a equação da reta para realização dos cálculos. Desta forma, calculou-se o fator de calibração necessário para converter a porcentagem de inibição da auto-oxidação em unidades de enzima.

Em cubeta de quartzo foram adicionados 988 μL de tampão e 4 μL de catalase. Zerou-se o espectrofotômetro e adicionou-se 8 μL de pirogalol, observando a auto-oxidação do mesmo. Desta forma, obtivemos o máximo (100%) de oxidação desta substância, para calcular a percentagem de inibição causada pela SOD da amostra. Com a amostra, procedeu-se da mesma forma, apenas com o reajuste do volume de tampão para 975 μL e de amostra para 15 μL, para se ter um volume final de 1 mL. Os resultados foram expressos em unidades de SOD por miligrama de proteína (U SOD.mg proteína^{-1}).

3.6.5. Catalase

A atividade da catalase (CAT) é diretamente proporcional à taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio, e obedece a uma cinética de pseudo primeira ordem. Sendo assim, a atividade da enzima catalase pode ser medida através da avaliação do consumo do peróxido de hidrogênio.

$$2\ H_2O_2 \xrightarrow[CAT]{} H_2O + O_2$$

Este teste consiste em avaliar a diminuição da absorbância no comprimento de onda de 240 nm, utilizando-se cubetas de quartzo (BOVERIS, 1973).

Para realização deste ensaio foram utilizados os seguintes reagentes:

- Solução tampão constituída de fosfatos a 50 mM e pH 7,4;
- Peróxido de hidrogênio 0,3 M.

Em cubeta de quartzo foram adicionados 975 μL do tampão fosfato e 10 μL de amostra de sangue, esta cubeta foi colocada no espectrofotômetro e descontada contra um branco de tampão fosfato. Após, foram adicionados 15 μL do peróxido de hidrogênio e foi feito o monitoramento da diminuição da absorbância no comprimento de onda selecionado.

Os resultados foram expressos em nanomoles por miligrama de proteína (nM.mg proteína^{-1}).

3.6.6. Glutationa peroxidase

A enzima GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com a glutationa reduzida para formar glutationa oxidada e o produto da redução do hidroperóxido, por isso a sua atividade pode ser determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução acoplada à reação da GPx.

$$2\ H_2O_2 + 2\ GSH \xrightarrow[GPx]{} GSSG + 2\ H_2O$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow[GR]{} 2GSH + NADP^+$$

A amostra foi previamente preparada adicionando-se uma mistura de cianetos (cianeto de potássio - KCN 9 mM e ferrocianeto de potássio - $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,9 mM), para inibir a atividade pseudo peroxidase da hemoglobina. Inicialmente utiliza-se a mistura de cianetos para se obter o reativo de drabkin, para medir a quantidade de hemoglobina. Depois de conhecida a concentração de hemoglobina, estas mesmas soluções são utilizadas,

em diferentes proporções, para se obter a solução transformante, que vai transformar toda a hemoglobina em cianometahemoglobina.

Solução transformante:

- 5 mL de KCN 9 mM;
- 5 mL de $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,9 mM.

A atividade da GPx foi medida em espectrofotômetro. Foi monitorada a diminuição de absorbância do NADPH a 340 nm (FLOHÉ, 1984).

Para realização deste ensaio foram utilizados os seguintes reagentes:

- Solução tampão de fosfatos 143 mM e EDTA 1 mM, com pH 7,5;
- NADPH 0,24 mM;
- Azida sódica 1 mM, utilizada para inibir a atividade da catalase;
- Hidroperóxido de tert-butila 0,5 mM;
- Glutationa redutase (GR) 0,25 $U.mL^{-1}$;
- Glutationa (GSH) 5 mM.

Em cubeta de quartzo foram adicionados 715 μL de tampão, 33 μL de NADPH, 10 μL de azida sódica, 50 μL de hidroperóxido de tert-butila e 17 μL de GR. A absorbância foi registrada por um período de aproximadamente 1 minuto, até haver estabilização da linha base. Após, foram adicionados 50 μL de GSH, e a diminuição da absorbância foi monitorada por aproximadamente 2 minutos, esta foi considerada a absorbância 1. Finalmente foram acrescentados 167 μL da amostra e foi monitorado por mais 2 minutos, e a diminuição da absorbância foi devida ao consumo de NADPH e considerada a absorbância 2. Os resultados foram expressos em nanomoles por minuto por mg de proteína ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$).

3.7. Recursos humanos

Mestranda: Cláudia Dornelles Schneider (Nutricionista)

Orientador: Professor Alvaro Reischak de Oliveira

Colaboradores:

Luis Fernando Deresz

Jerri Ribeiro

Karen Patrícia Macedo Fengler

Luciane Palma Simões

Jaqueline Barp

Patrícia Bock

Lucila Ludmila Gutierrez

Márcio Martins Silveira

Ana Paula Trussardi Fayh

3.8. Estudo piloto

Foi realizado um estudo piloto com o propósito de determinar o número de coletas sangüíneas por teste, o tempo de duração e a intensidade do exercício. Além disso, o sangue coletado serviu para aprimorar as técnicas bioquímicas envolvidas no projeto. A rotina de coleta, transporte e análise do sangue no estudo piloto foi fundamental para definir a rotina do experimento.

3.9. Tratamento estatístico

Os dados foram estruturados e analisados utilizando o pacote estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) versão 8.0. Todos os resultados (tabelas e figuras) foram expressos em média ± erro padrão. O nível de significância aceito foi de 5%.

A análise foi assim constituída:

a) baseados no modelo estatístico do projeto fatorial e através da análise de variança de três fatores, buscou-se identificar a existência de efeitos principais dos fatores controlados.

b) Foram avaliadas a distribuição de todas as variáveis contínuas para verificação do pressuposto de normalidade, através do teste Shapiro-Wilk, e a análise da homocedasticidade de variânças através do teste de Levene. Nos casos em que os dados não passaram pelos testes de normalidade ou homocedasticidade, foram realizados os testes não paramétricos respectivos, e indicado nos resultados.

c) Foi utilizada a análise de variança de uma via, com *post hoc* de Student-Newman-Keuls, para verificar diferenças na freqüência cardíaca entre as três intensidades de exercícios.

d) Foi utilizado o teste t para amostras independentes para verificar se havia diferença entre os grupos em relação: às características dietéticas; às características de massa corporal, altura, % gordura, idade, $\dot{V}O_{2máx}$, volume de treino semanal; kcal ingeridas e gastas; à velocidade dos testes; à freqüência cardíaca em cada intensidade; às variáveis de resposta QL, TRAP, CAT, SOD e GPx.

e) Foi utilizado o teste t pareado para verificar se havia diferença entre: antes e depois do exercício nas variáveis de resposta QL, TRAP, CAT, SOD e GPx; consumo alvo e alcançado; Kcal ingeridas e gastas; peso antes e depois do exercício.

3.10. Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa PROPESQ/UFRGS (anexo 5).

4. RESULTADOS

4.1. Características dos grupos

Os valores das características dos grupos estudados, em relação a idade, massa corporal, estatura, $\dot{V}O_{2máx}$, volume de treino semanal e percentual de gordura são apresentados na tabela 4. Existe diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação ao $\dot{V}O_{2máx}$, volume de treino semanal e percentual de gordura.

Tabela 4 – Características dos grupos em relação à idade, massa corporal, estatura, $\dot{V}O_{2máx}$, volume de treino semanal e percentual de gordura.

	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
Idade (anos)	26,50 ± 1,18	24,33 ± 0,79	0,142
Massa corporal (kg)	71,68 ± 2,15	72,95 ± 4,56	0,813
Estatura (cm)	1,75 ± 0,018	1,77 ± 0,035	0,510
$\dot{V}O_{2máx}$ ($mL.kg^{-1}.min^{-1}$)	56,21 ± 0,99	42,77 ± 1,51	0,000
Volume treino semanal (min)	1161,87 ± 71,23	153,75 ± 42,59	0,000
Percentual de gordura (%)	8,36 ± 0,50	12,30 ± 1,38	0,024

As figuras 6, 7 e 8 apresentam, respectivamente, as características de consumo máximo de oxigênio, volume de treino semanal e percentual de gordura, que possuem diferença estatisticamente significativa, conforme descrito acima.

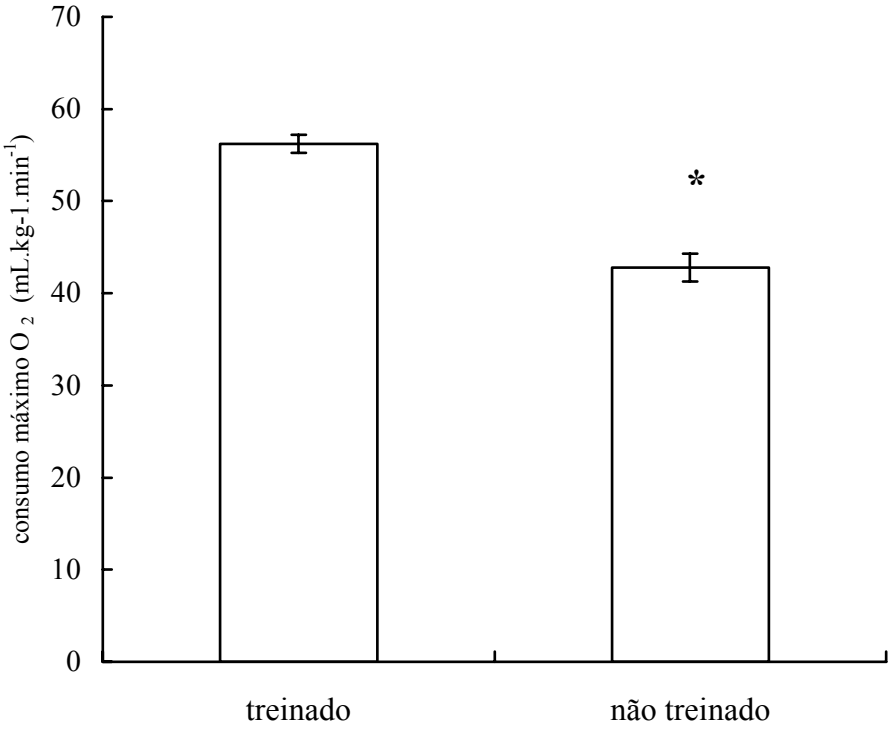

Figura 6 – Consumo máximo de oxigênio ($mL.kg^{-1}.min^{-1}$) em indivíduos treinados e não treinados, * $p<0,05$ em relação ao grupo treinado.

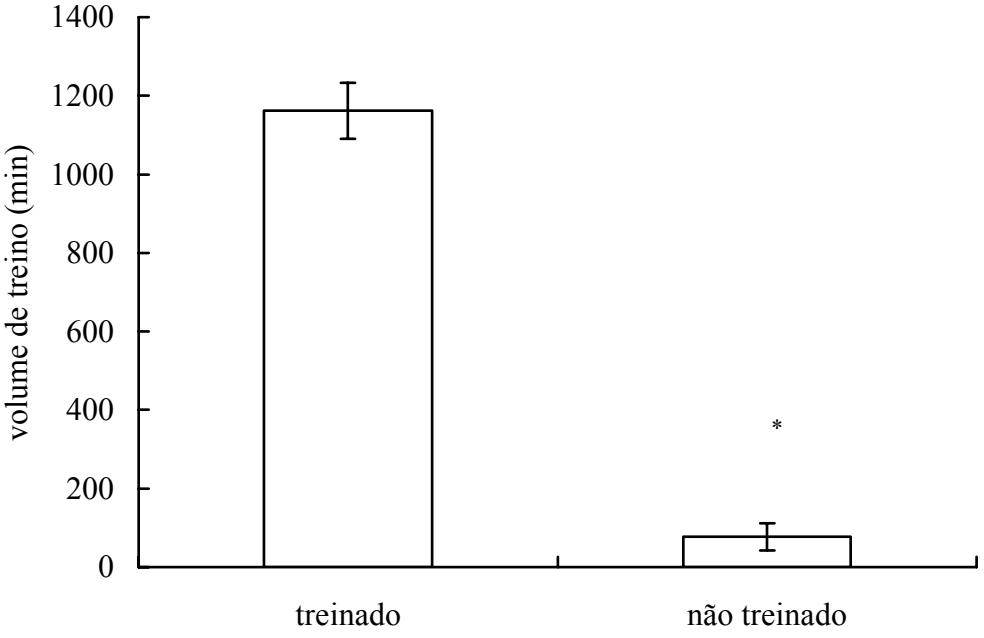

Figura 7 – Volume de treino semanal (min), * $p<0,05$ em relação ao grupo treinado.

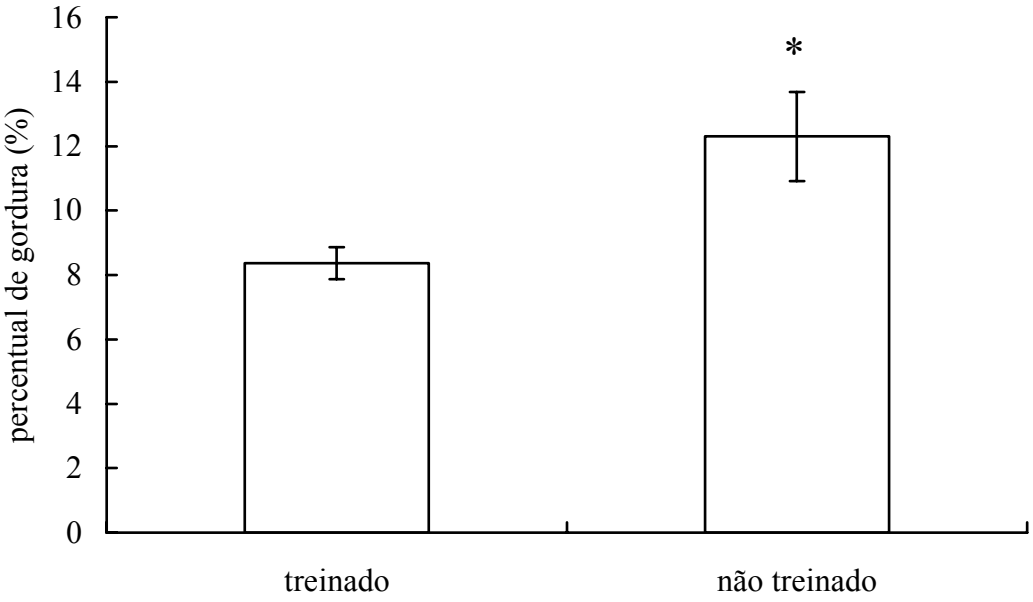

Figura 8 – Percentual de gordura (%), * p<0,05 em relação ao grupo treinado.

As tabelas 5 e 6 comparam o consumo de oxigênio alvo e alcançado nos testes submáximos para os grupos treinado e não treinado respectivamente, mostrando que não há diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 5 – Consumo de oxigênio ($mL.kg^{-1}.min^{-1}$) alvo e alcançado nos testes submáximos no grupo treinado

intensidade (n)	consumo alvo	consumo alcançado	p
LV1 (8)	30,90 ± 2,59	30,31 ± 2,27	0,303
LV2 (8)	42,95 ± 2,04	42,00 ± 1,68	0,101
AnM (7)	51,50 ± 1,40	51,02 ± 1,46	0,175

Tabela 6 – Consumo de oxigênio ($mL.kg^{-1}.min^{-1}$) alvo e alcançado nos testes submáximos no grupo não treinado

Intensidade (n)	consumo alvo	consumo alcançado	p
LV1 (9)	21,85 ± 2,47	21,64 ± 2,57	0,527
LV2 (9)	33,04 ± 1,54	32,90 ± 1,32	0,708
AnM (9)	39,56 ± 1,42	39,47 ± 1,52	0,754

Através das figuras 9 e 10 podemos observar o consumo de oxigênio alvo e alcançado nos testes submáximos para o grupo treinado e não treinado respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os consumos alvo e alcançado, em nenhum teste para nenhum grupo.

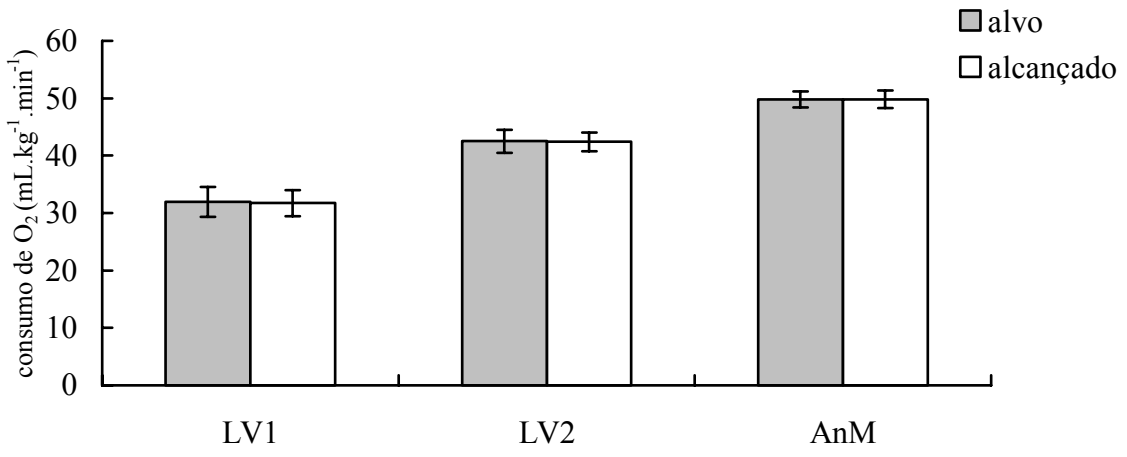

Figura 9 – Consumo de oxigênio ($mL.kg^{-1}.min^{-1}$) alvo e alcançado nos testes submáximos no grupo treinado.

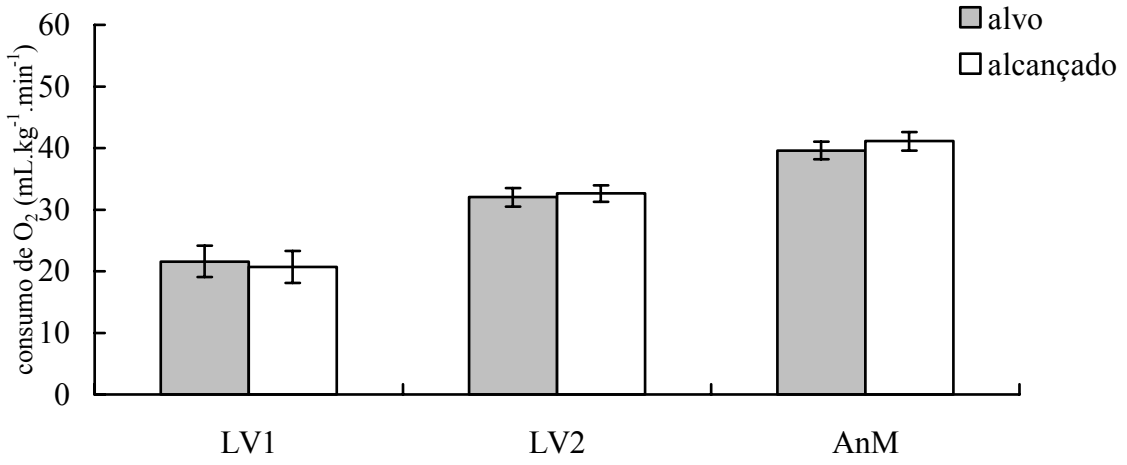

Figura 10 – Consumo de oxigênio ($mL.kg^{-1}.min^{-1}$) alvo e alcançado nos testes submáximos no grupo não treinado.

A comparação da velocidade média entre os grupos nos testes submáximos é apresentada na tabela 7.

Tabela 7 – Velocidade média ($km.h^{-1}$) entre os grupos treinado e não treinado.

intensidade	treinado	não treinado	p
LV1	9,47 ± 0,66	6,88 ± 0,54	0,009
LV2	12,93 ± 0,33	9,97 ± 0,39	0,000
AnM	16,35 ± 0,31	11,86 ± 0,27	0,000

A figura 11 mostra a velocidade média nos testes submáximos para os grupos treinado e não treinado. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos em todas as intensidades.

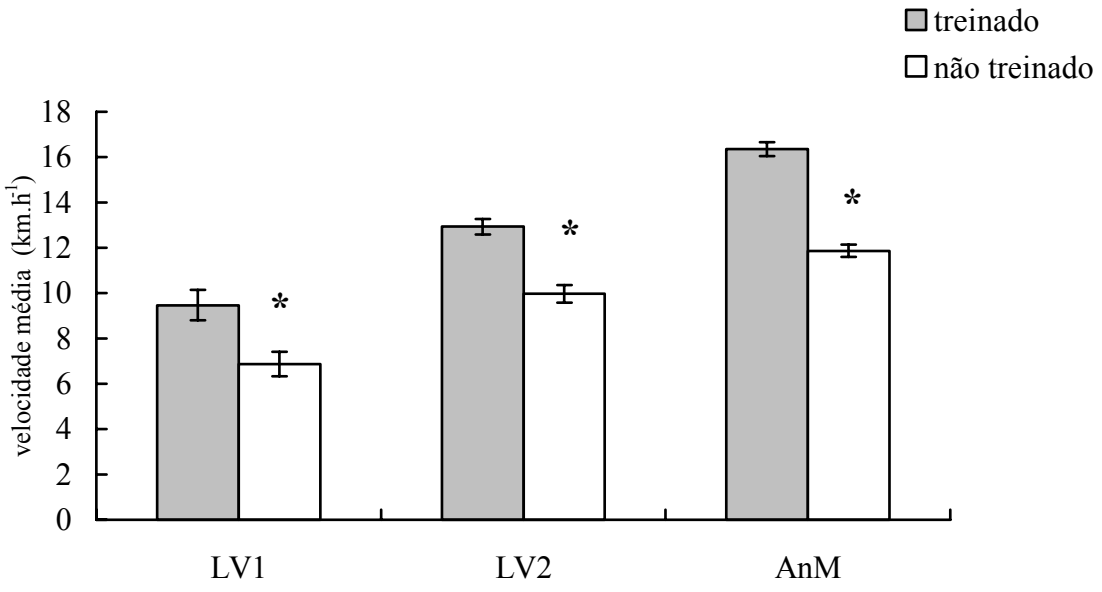

Figura 11 – Velocidade média ($km.h^{-1}$), * $p<0,05$ na comparação entre treinado e não treinado.

A tabela 8 apresenta os valores de freqüência cardíaca (FC) nos testes submáximos dos grupos treinado e não treinado. Dentro de cada grupo foi encontrada diferença estatisticamente significativa da FC entre as intensidades.

Tabela 8 – Frequência cardíaca (bpm) de ambos os grupos nas três intensidades de exercício

grupo	LV1 (n)	LV2 (n)	AnM (n)	p
treinado	136 ± 7 (7)a	156 ± 4 (4)b	176 ± 4 (6)b	0,0008
não treinado	145 ± 6 (8)a	162 ± 4 (8)b	181 ± 2 (5)c	0,0007

as letras discordantes indicam significância estatística.

Além disso, através do teste t para amostras independentes, observamos que não houve diferença da FC entre os grupos dentro de cada intensidade.

As tabelas 9 e 10 apresentam o peso antes e após os testes submáximos para os grupos treinado e não treinado respectivamente. Houve diferença estatisticamente significativa no peso depois do exercício, em todos os testes para ambos os grupos.

Tabela 9 – Peso (kg) antes e depois dos testes submáximos no grupo treinado.

intensidade	peso antes	peso depois	p
LV1	71,98 ± 2,10	71,36 ± 2,08	0,000
LV2	72,36 ± 1,96	71,36 ± 1,93	0,000
AnM	71,61 ± 2,25	71,05 ± 2,26	0,003

Tabela 10 – Peso (kg) antes e depois dos testes submáximos no grupo não treinado.

intensidade	peso antes	peso depois	p
LV1	72,95 ± 4,80	72,40 ± 4,80	0,000
LV2	73,15 ± 4,80	72,47 ± 4,77	0,000
AnM	73,00 ± 4,52	72,43 ± 4,51	0,000

A figura 12 apresenta a diferença de peso (delta) após os testes submáximos para ambos os grupos.

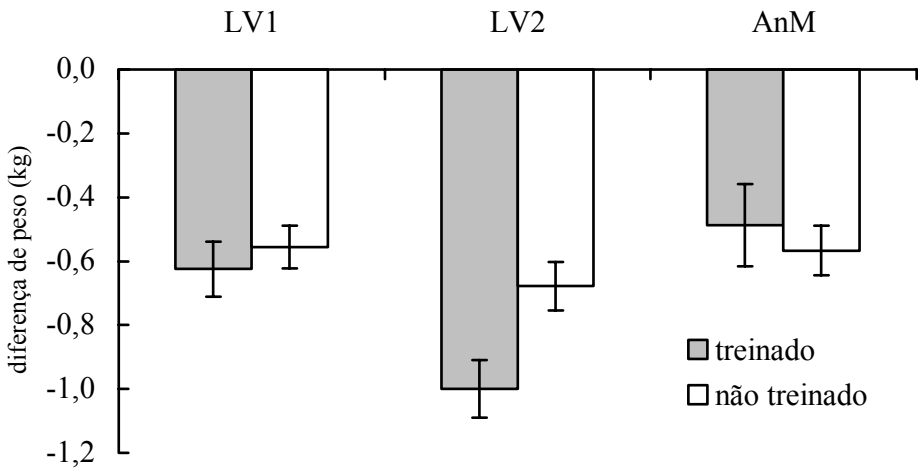

Figura 12 – Diferença de peso (kg) após os testes submáximos para ambos os grupos.

4.2. Descrição das características dietéticas

A tabela 11 apresenta os dados referentes aos parâmetros nutricionais de ambos os grupos, obtidos a partir do registro de ingesta de três dias. Houve diferença significativa, avaliada através do teste t para amostras independentes, entre os grupos quanto ao número de Kcal ingeridas e ao percentual de carboidratos. Um dos indivíduos do grupo não treinado não preencheu o registro alimentar, portanto os parâmetros mencionados abaixo se referem a oito indivíduos.

Tabela 11 – Parâmetros nutricionais de ambos os grupos. Quilocalorias (kcal), percentual de carboidratos (%HC), percentual de proteínas (%P), percentual de lipídeos (%L), gramas de proteína por quilograma de massa corporal (g proteína.kg^{-1})

	treinado (n=8)	não treinado (n=8)	p
kcal	3980,84 ± 387,79	2626,29 ± 220,41	0,011
%HC	55,42 ± 1,80	46,77 ± 3,17	0,033
%P	14,97 ± 0,90	18,12 ± 1,17	0,052
%L	29,58 ± 1,65	35,11 ± 2,36	0,076
g proteína.kg^{-1}.	2,07 ± 0,13	1,68 ± 0,16	0,079

A tabela 12 compara as quilocalorias ingeridas pela dieta com as quilocalorias gastas com o exercício, em ambos os grupos. Através do teste t pareado pode-se observar que não houve diferença significativa entre o número de kcal ingeridas e gastas, mas o grupo treinado apresentou um delta de –861,66 kcal, enquanto a diferença para o grupo não treinado foi de –57,29 kcal.

Tabela 12 – Comparação da ingesta calórica com o gasto energético para cada grupo

Grupo	kcal ingeridas	kcal gastas	p
treinado	3980,84 ± 387,79	4842,51 ± 231,12	0,072
não treinado	2626,29 ± 220,41	2683,59 ± 120,61	0,806

A tabela 13 compara, através do teste t para amostras independentes, os grupos treinado e não treinado em relação às quilocalorias ingeridas pela dieta e às quilocalorias gastas com o exercício. Houve diferença significativa entre os grupos tanto em relação às kcal ingeridas quanto às kcal gastas.

Tabela 13 – Comparação dos grupos em relação à ingesta calórica e ao gasto energético

	treinado	não treinado	p
kcal ingeridas	3980,84 ± 387,79	2626,29 ± 220,41	0,011
kcal gastas	4842,51 ± 231,12	2683,59 ± 120,61	0,000

A refeição padrão que foi oferecida a todos os indivíduos antes dos testes submáximos possui uma capacidade antioxidante de 429μM trolox em uma concentração de carboidrato a 10%.

4.3. Testes na esteira rolante

As figuras 13, 14 e 15 apresentam a média do consumo de oxigênio alvo e o alcançado para as intensidades de exercício LV1, LV2 e AnM respectivamente, em ambos os grupos. As linhas horizontais representam o consumo alvo para cada grupo e intensidade. Em média o consumo alvo nos testes submáximos foi alcançado dentro de 9 a 12 minutos. Além disso, sempre que necessário a velocidade do teste era alterada para manter o consumo de oxigênio próximo ao desejado.

O anexo 6 apresenta cada sujeito e a respectiva ordem na qual realizaram os testes. Cabe salientar que um indivíduo do grupo treinado não realizou o teste AnM, portanto todos os resultados a seguir para esta intensidade contam com n = 7.

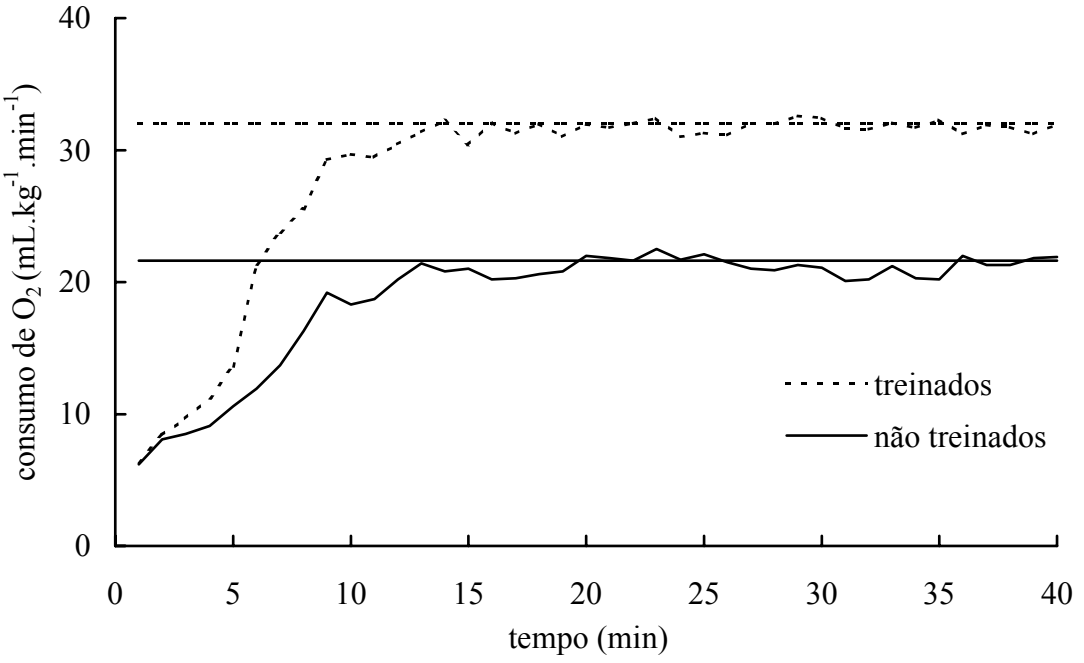

Figura 13 – Média do consumo de oxigênio alvo e alcançado no teste LV1, em indivíduos treinados (n=8) e não treinados (n=9).

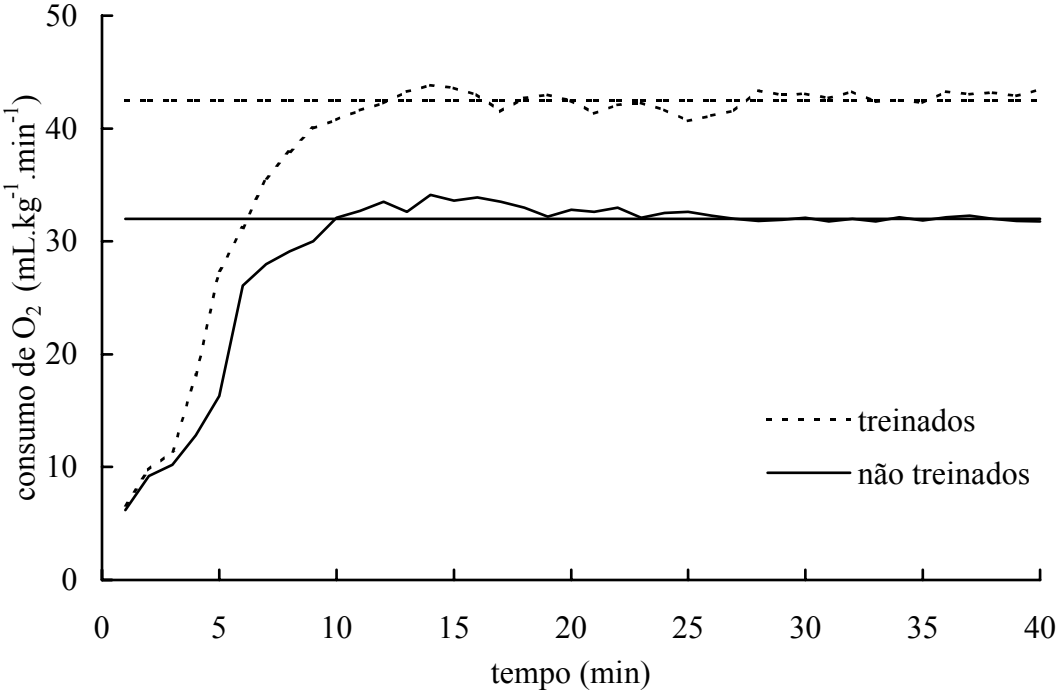

Figura 14 – Média do consumo de oxigênio alvo e alcançado no teste LV2, em indivíduos treinados (n=8) e não treinados (n=9).

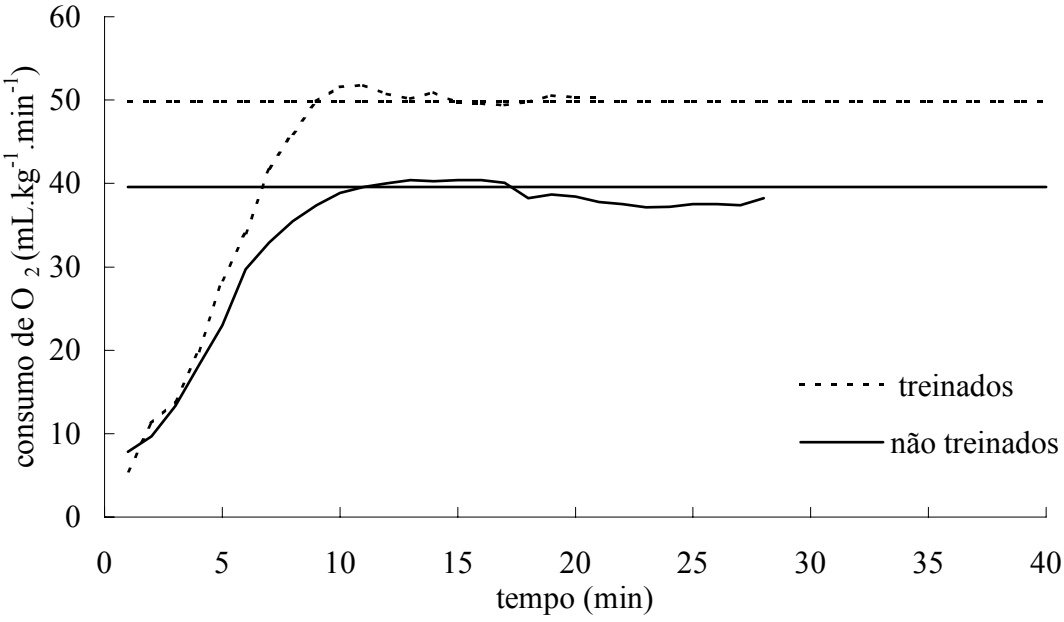

Figura 15 – Média do consumo de oxigênio alvo e alcançado no teste AnM, em indivíduos treinados (n=7) e não treinados (n=9).

A tabela 14 apresenta o consumo máximo de oxigênio, o consumo de oxigênio no limiar anaeróbio e o percentual do consumo máximo de oxigênio correspondente ao limiar anaeróbio, para os grupos treinado e não treinado.

Tabela 14 - Percentual do $\dot{V}O_{2máx}$ correspondente ao limiar anaeróbio

grupo	indivíduos	$\dot{V}O_{2máx}$	$\dot{V}O_2$ limiar	% $\dot{V}O_{2máx}$
treinado	1	57,2	51,2	89,5
	2	52,9	42,3	79,9
	3	56,9	42,6	74,8
	4	56,7	41,0	72,3
	5	55,7	49,6	89,0
	6	61,5	54,7	88,9
	7	52,4	46,0	87,7
	8	56,6	48,4	85,5
média				83,4
não treinado	1	45,8	36,6	79,9
	2	42,6	35,6	83,5
	3	39,5	34,7	87,8
	4	49,8	44,8	89,9
	5	45,2	40,2	88,9
	6	38,8	34,8	89,6
	7	35,3	26,5	75,0
	8	43,7	35,5	81,2
	9	45,7	43,1	94,3
média				85,5

4.4. Parâmetros oxidativos e antioxidantes

Inicialmente, baseados no modelo estatístico do projeto fatorial e através da análise de variança de três fatores, buscou-se identificar a existência de efeitos principais dos fatores controlados. Foi encontrado um efeito principal do exercício sobre a capacidade antioxidante total (TRAP). Houve um aumento estatisticamente significativo do TRAP depois do exercício (p=0,042), e pode ser observado na figura 16.

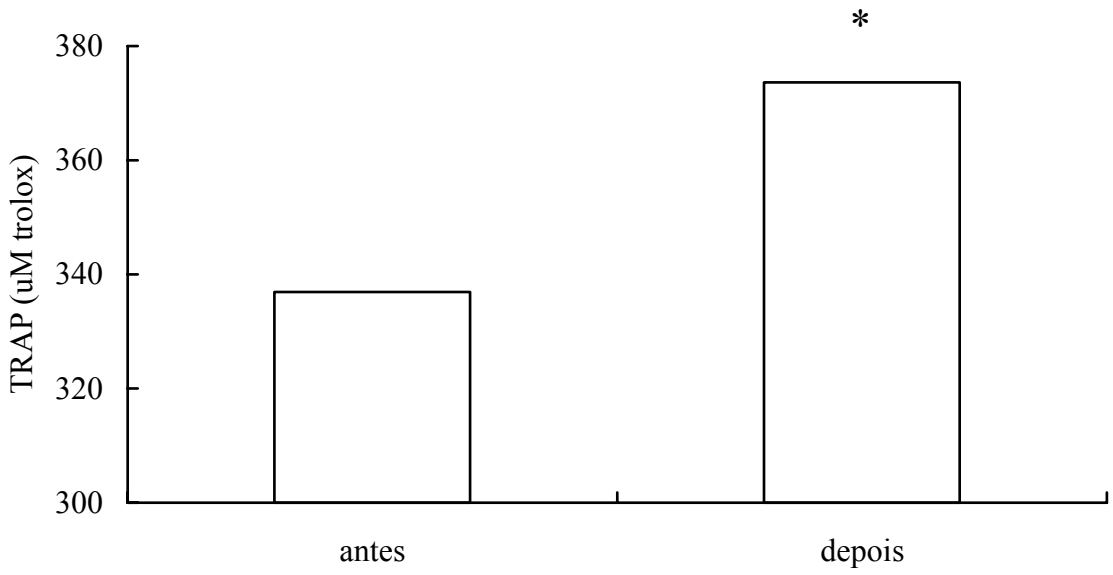

Figura 16 – Efeito principal do exercício sobre o TRAP (μM trolox), * p<0,05 em relação à antes do exercício.

Além disso, também foi verificado um efeito principal do estado de condicionamento sobre a atividade da enzima glutationa peroxidase (GPx). Os indivíduos treinados apresentaram níveis significativamente mais altos da atividade da GPx comparados aos não treinados (p=0,008), conforme mostra a figura 17.

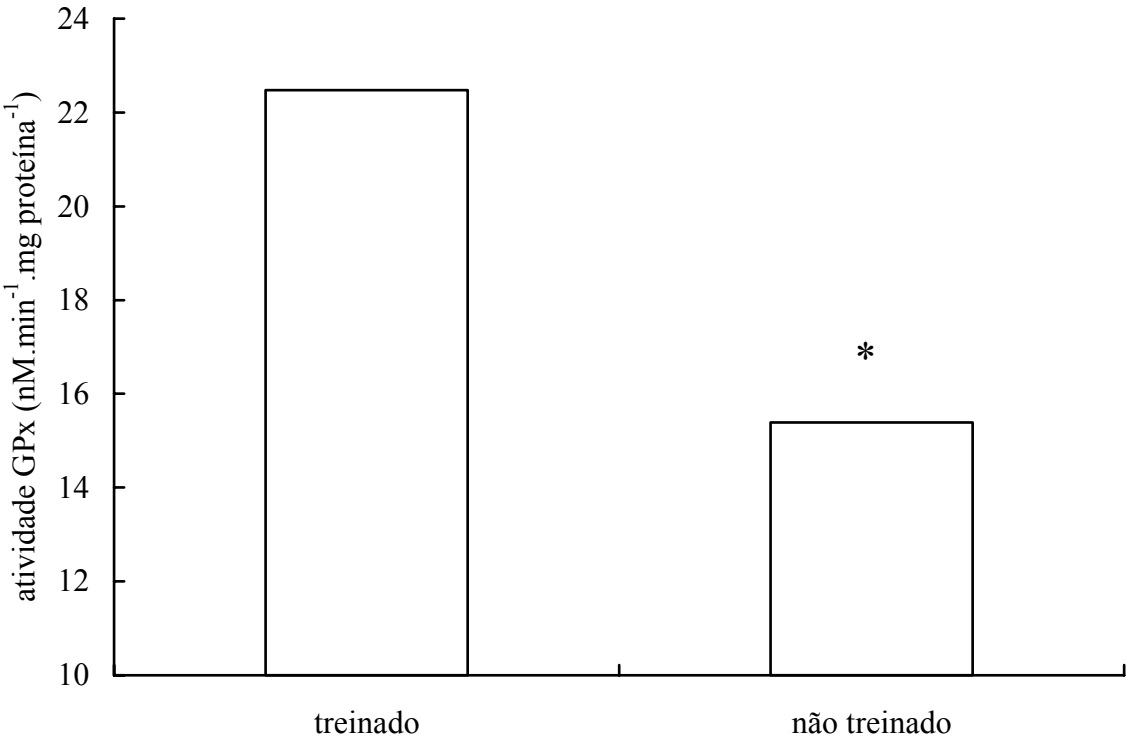

Figura 17 – Efeito principal do estado de condicionamento sobre a atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$), * $p<0,05$ em relação aos treinados.

Como não houve efeito de interação na análise do modelo estatístico do projeto fatorial não foi usado nenhum teste *post hoc*.

Num segundo momento, foi utilizado o teste t pareado para analisar se havia diferenças nas variáveis de resposta entre antes e depois do exercício, nas distintas intensidades em ambos os grupos. O teste t para amostras independentes foi empregado nas comparações entre os grupos.

Os resultados foram organizados separadamente para cada variável de resposta. Primeiro foi apresentado o resultado da quimiluminescência como medida de estresse

oxidativo, e em seguida a capacidade antioxidante total e enzimas antioxidantes como medidas do perfil antioxidante.

4.4.1. Quimiluminescência (QL)

A QL é um importante método de quantificação de lipoperoxidação.

A tabela 15 e a figura 18 comparam os resultados de QL do grupo treinado antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho. Houve uma redução significativa da QL na intensidade AnM.

Tabela 15 – Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) do grupo treinado, antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho.

intensidade (n)	antes	depois	p
LV1 (8)	4127,03 ± 183,88	4420,77 ± 197,84	0,073
LV2 (8)	3824,32 ± 214,37	3903,59 ± 260,66	0,621
AnM (7)	3589,82 ± 193,25	3274,01 ± 223,30	0,048

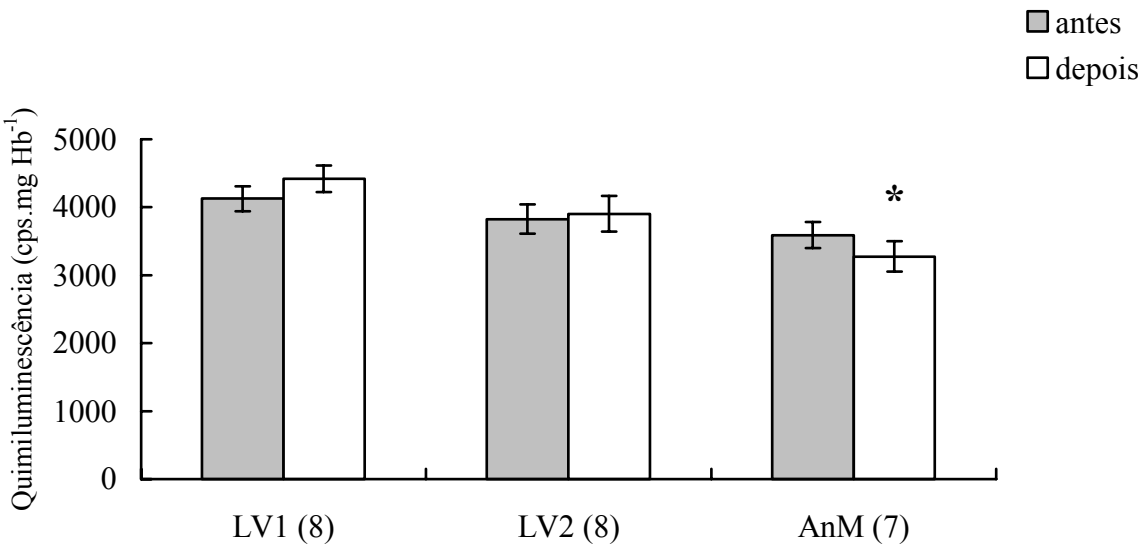

Figura 18 – Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) do grupo treinado, * $p<0,05$ entre antes e depois do exercício. Os números entre parênteses referem-se ao n.

A tabela 16 e a figura 19 comparam os resultados de QL no grupo não treinado antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho. Não houve diferença significativa na QL após o exercício em nenhuma intensidade.

Tabela 16 – Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) do grupo não treinado, antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho.

intensidade (n)	antes	depois	p
LV1 (9)	3535,65 ± 240,40	3926,52 ± 368,02	0,358
LV2 (9)	3686,56 ± 318,95	3615,70 ± 339,02	0,706
AnM (9)	3793,12 ± 269,77	4049,23 ± 458,04	0,462

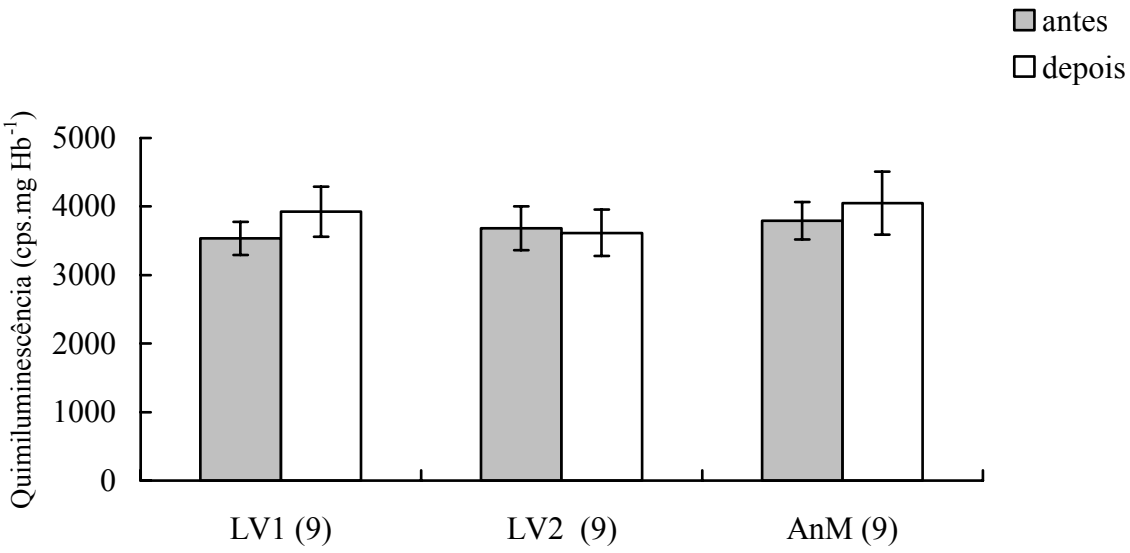

Figura 19 – Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) do grupo não treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.

Os resultados a seguir referem-se às intensidades LV1, LV2 e AnM, respectivamente. Os grupos foram comparados através do teste t para amostras independentes. As comparações foram em relação à antes do exercício, depois do exercício e ao delta (depois do exercício menos antes do exercício).

A tabela 17 compara a QL dos grupos treinado e não treinado na intensidade LV1. Como os dados referentes ao delta no grupo não treinado nesta intensidade não passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk, o valor de p apresentado na tabela 17 refere-se ao teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney (não paramétrico). A figura 20 apresenta os grupos treinado e não treinado na intensidade LV1 antes e depois do exercício. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa da QL entre os grupos.

Tabela 17 – Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) entre os grupos na intensidade LV1.

LV1	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
antes	4127,03 ± 183,88	3535,65 ± 240,40	0,075
depois	4420,77 ± 197,84	3926,52 ± 368,02	0,272
delta	293,74 ± 139,45	390,87 ± 400,52	0,335

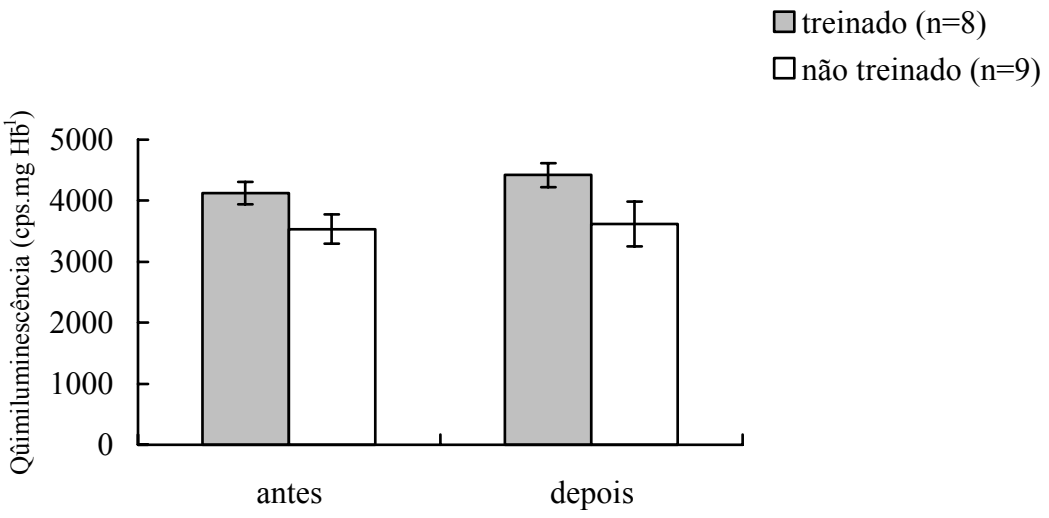

Figura 20 – Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) entre os grupos na intensidade LV1.

A tabela 18 e a figura 21 comparam a QL dos grupos treinado e não treinado na intensidade LV2. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos antes ou depois do exercício para esta intensidade.

Tabela 18 – Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) entre os grupos na intensidade LV2

LV2	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
antes	3824,32 ± 214,37	3686,56 ± 318,95	0,732
depois	3903,59 ± 260,66	3615,70 ± 339,02	0,519
delta	79,27 ± 153,35	-70,85 ± 180,93	0,542

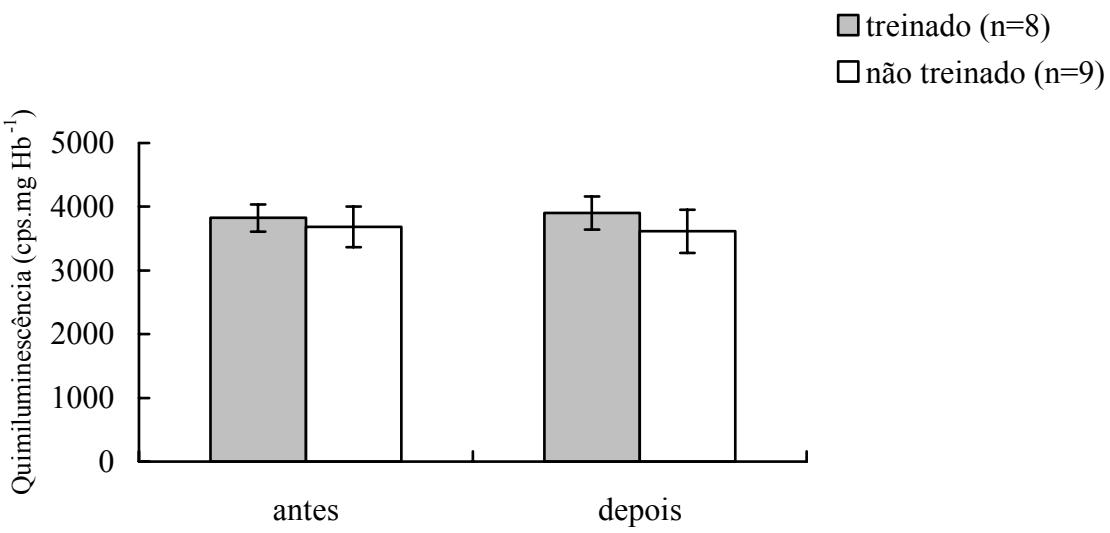

Figura 21 - Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) entre os grupos na intensidade LV2.

A tabela 19 e a figura 22 comparam a QL dos grupos treinado e não treinado na intensidade AnM. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nesta intensidade.

Tabela 19 – Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) entre os grupos na intensidade AnM

AnM	treinado (n=7)	não treinado (n=9)	p
antes	3589,82 ± 193,25	3793,12 ± 269,77	0,572
depois	3274,01 ± 223,30	4049,23 ± 458,04	0,187
delta	-315,81 ± 127,71	256,11 ± 331,52	0,170

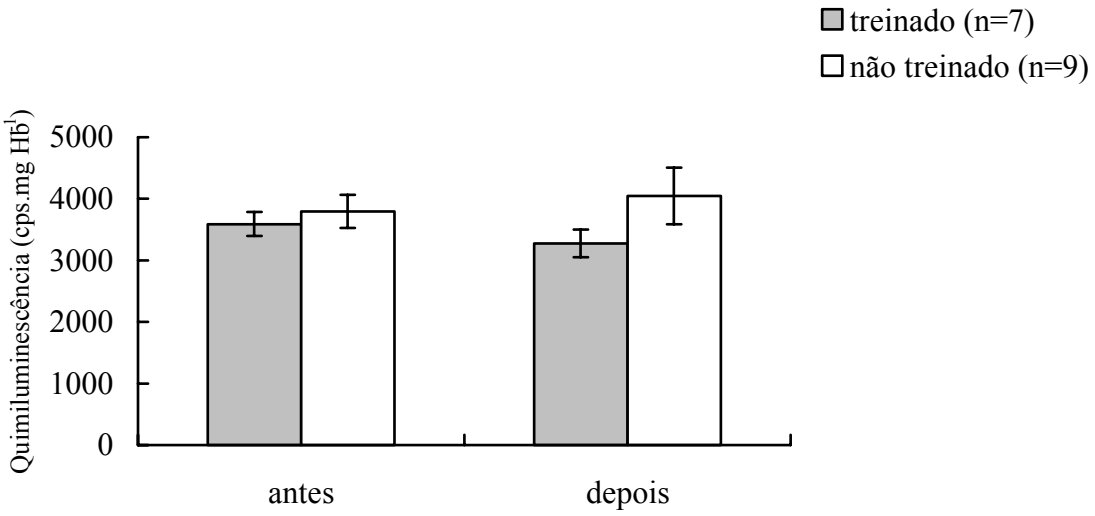

Figura 22 - Quimiluminescência (cps.mg Hb^{-1}) entre os grupos na intensidade AnM.

4.4.2. Capacidade antioxidante total (TRAP)

A capacidade antioxidante total é uma medida global não enzimática de antioxidantes contidos no plasma como glutationa, ácido úrico, vitamina C, etc.

A tabela 20 e a figura 23 apresentam o resultado do TRAP antes e depois do exercício, através do teste t pareado, nas três cargas de trabalho no grupo treinado. Os dados do TRAP na intensidade AnM não passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk, portanto o valor de p apresentado na tabela 20 refere-se ao teste não paramétrico de Mann-Whitney. Houve diferença estatisticamente significativa depois do exercício na intensidade AnM.

Tabela 20 – Comparação do TRAP (μM trolox) antes e depois do exercício no grupo treinado.

intensidade (n)	antes	depois	p
LV1 (8)	307,06 ± 23,47	357,31 ± 19,32	0,118
LV2 (8)	352,92 ± 27,89	373,73 ± 50,83	0,474
AnM (7)	304,42 ± 45,25	384,06 ± 57,79	0,027

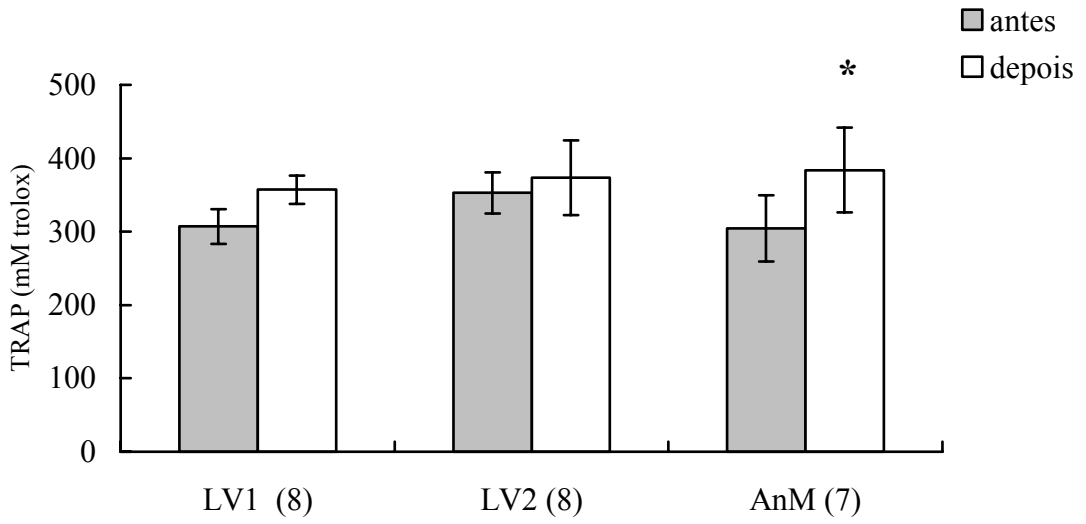

Figura 23 – TRAP (μM trolox) no grupo treinado, * p<0,05 entre antes e depois do exercício. Os números entre parênteses referem-se ao n.

A tabela 21 e a figura 24 apresentam através do teste t pareado os resultados do TRAP no grupo não treinado, antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho. Houve diferença significativa depois do exercício nas intensidades LV1 e AnM.

Tabela 21 – Comparação do TRAP (μM trolox) antes e depois do exercício no grupo não treinado.

Intensidade (n)	antes	depois	p
LV1 (9)	334,33 ± 23,17	388,39 ± 27,82	0,014
LV2 (9)	407,52 ± 33,41	390,65 ± 29,95	0,447
AnM (9)	306,72 ± 17,39	348,06 ± 16,46	0,043

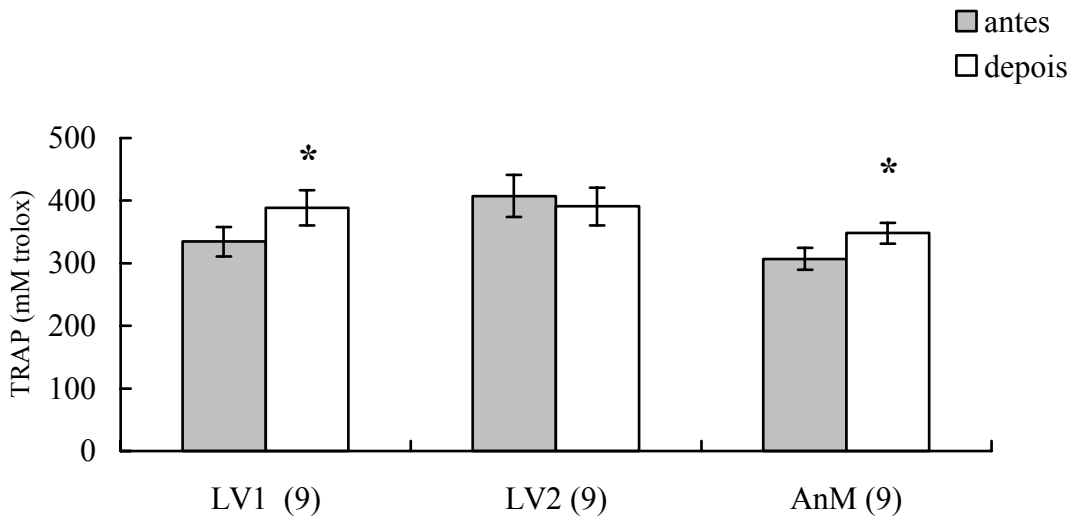

Figura 24 – TRAP (μM trolox) no grupo não treinado, * p<0,05 comparando antes e depois. Os números entre parênteses referem-se ao n.

Os resultados a seguir referem-se às intensidades LV1, LV2 e AnM respectivamente. Os grupos foram comparados através do teste t para amostras independentes. As comparações foram em relação à antes do exercício, depois do exercício e ao delta (depois do exercício menos antes do exercício).

A tabela 22 e a figura 25 apresentam o resultado do TRAP dos grupos treinado e não treinado na intensidade LV1. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nesta intensidade.

Tabela 22 – Comparação do TRAP (μM trolox) entre os grupos na intensidade LV1

LV1	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
antes	307,06 ± 23,47	334,33 ± 23,17	0,423
depois	357,31 ± 19,32	388,39 ± 27,82	0,385
delta	50,25 ± 28,17	54,05 ± 17,29	0,908

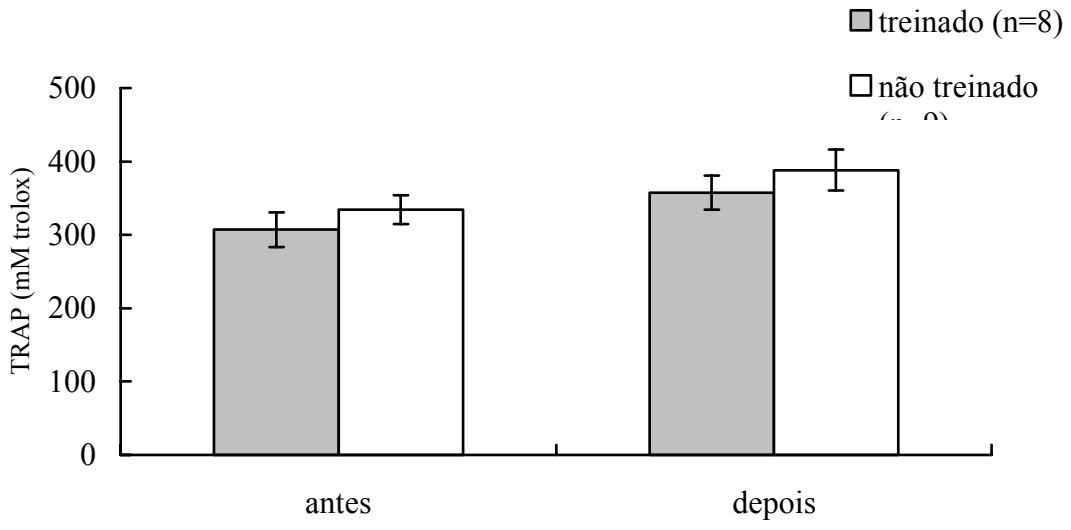

Figura 25 – Comparação do TRAP (μM trolox) entre os grupos na intensidade LV1.

A tabela 23 e a figura 26 apresentam o resultado do TRAP dos grupos treinado e não treinado na intensidade LV2. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos para esta intensidade.

Tabela 23 – Comparação do TRAP (μM trolox) entre os grupos na intensidade LV2

LV2	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
antes	352,92 ± 27,89	407,52 ± 33,41	0,235
depois	373,73 ± 50,83	390,65 ± 29,95	0,772
delta	20,80 ± 27,50	-16,87 ± 21,08	0,288

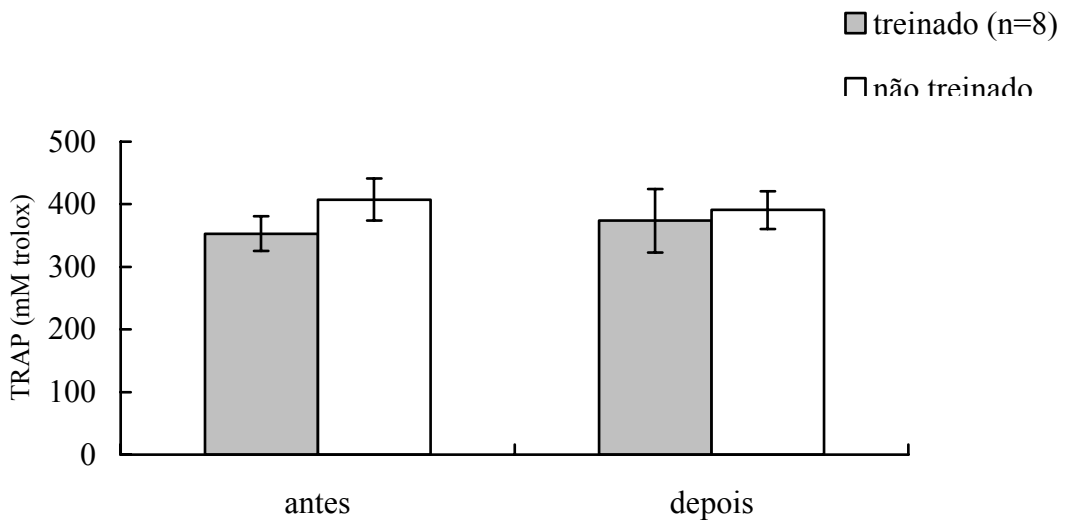

Figura 26 – Comparação do TRAP (μM trolox) entre os grupos na intensidade LV2.

A tabela 24 e a figura 27 apresentam o resultado do TRAP dos grupos treinado e não treinado na intensidade AnM. Os dados correspondentes ao TRAP antes do exercício no grupo treinado não passaram nos testes de normalidade de Shapiro-Wilk, assim como os dados do TRAP depois do exercício na análise entre os grupos não passaram no teste de Levene para igualdade de variâncias, nestes casos o valor de p apresentado refere-se ao resultado do teste não paramétrico de Mann-Whitney. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nesta intensidade.

Tabela 24 – Comparação do TRAP (μM trolox) entre os grupos na intensidade AnM.

AnM	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	P
antes	304,42 ± 45,25	306,72 ± 17,39	0,368
depois	384,06 ± 57,79	348,06 ± 16,46	0,248
delta	79,63 ± 24,65	41,34 ± 17,24	0,211

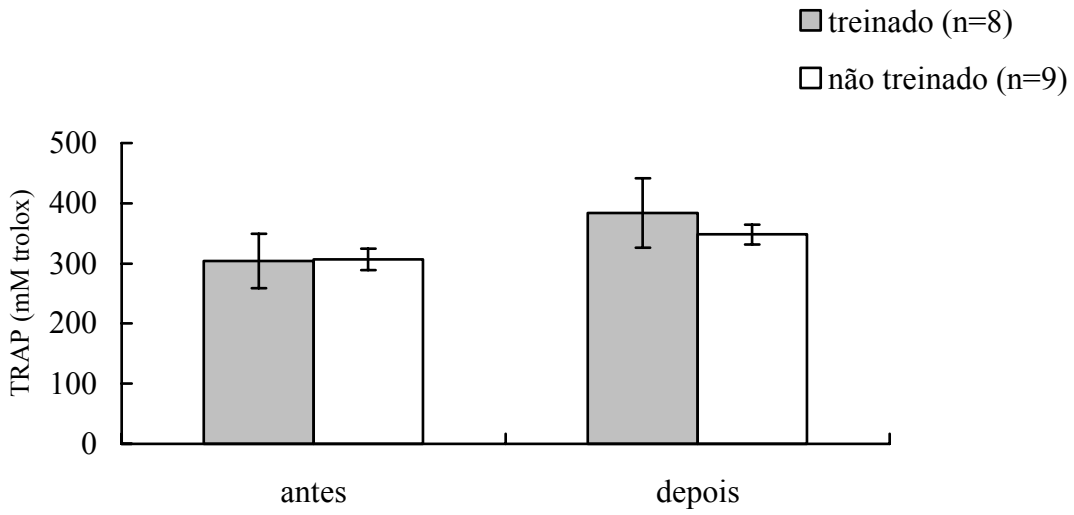

Figura 27 – Comparação do TRAP (μM trolox) entre os grupos na intensidade AnM.

4.4.3. Superóxido dismutase (SOD)

A enzima superóxido dismutase faz parte do sistema antioxidante de defesa enzimático.

A tabela 25 e a figura 28 apresentam os valores da atividade da enzima SOD antes e depois do exercício, obtidos através do teste t pareado, nas três cargas de trabalho para o grupo treinado. Não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa neste grupo para nenhuma intensidade de exercício.

Tabela 25 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) no grupo treinado

intensidade (n)	antes	depois	p
LV1 (8)	8,84 ± 1,04	9,18 ± 1,02	0,480
LV2 (8)	8,81 ± 0,70	9,63 ± 1,01	0,294
AnM (7)	7,98 ± 1,04	9,30 ± 1,42	0,079

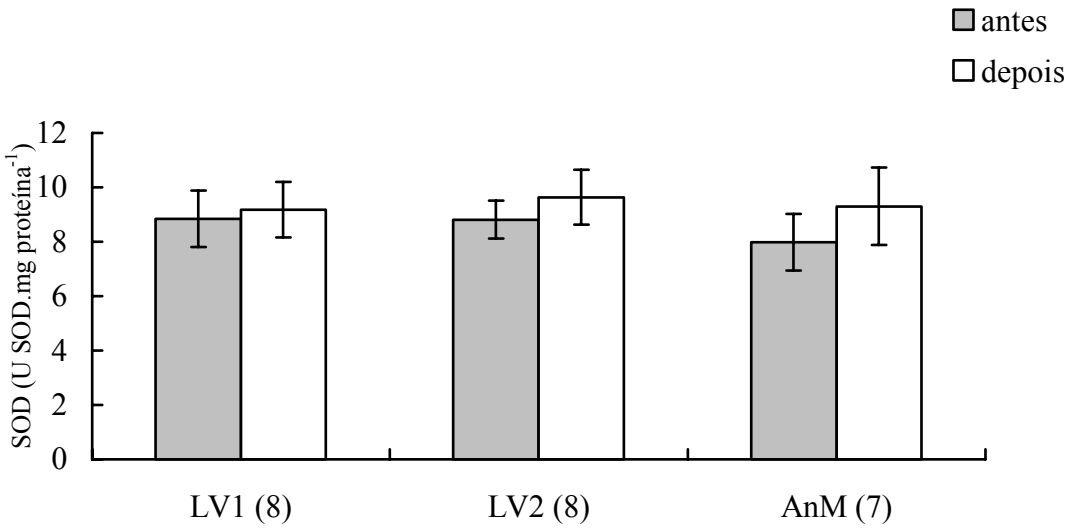

Figura 28 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) no grupo treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.

A tabela 26 e a figura 29 apresentam os valores da atividade da enzima SOD para o grupo não treinado, obtidos através do teste t pareado, antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho. Houve diferença estatisticamente significativa depois do exercício nas intensidades LV1 e LV2.

Tabela 26 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) no grupo não treinado

intensidade (n)	antes	depois	p
LV1 (9)	8,35 ± 0,85	9,23 ± 1,03	0,054
LV2 (9)	8,89 ± 0,98	10,44 ± 0,86	0,015
AnM (9)	8,98 ± 0,54	10,43 ± 1,06	0,232

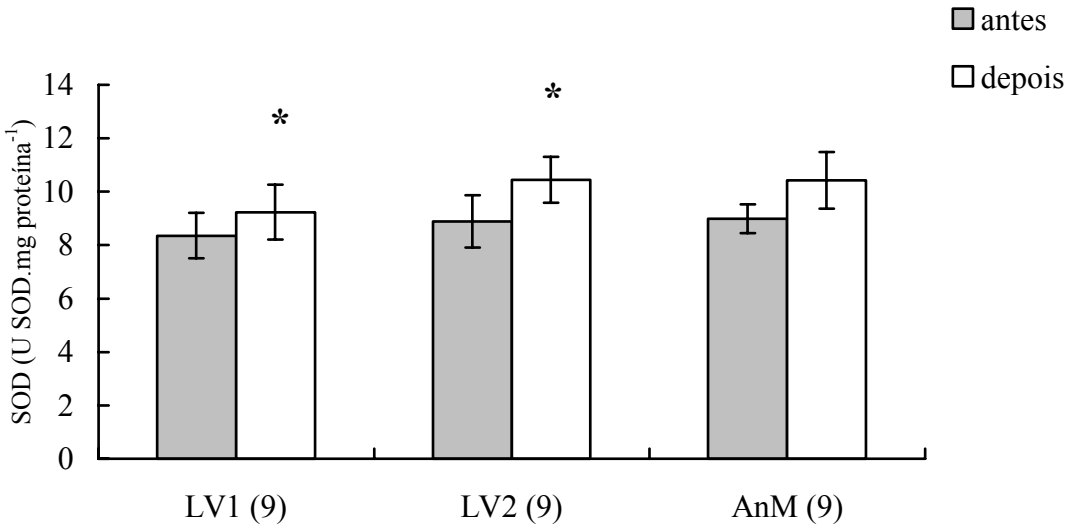

Figura 29 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) no grupo não treinado, * p<0,05 entre antes e depois do exercício. Os números entre parênteses referem-se ao n.

Os resultados a seguir referem-se às intensidades LV1, LV2 e AnM respectivamente. Os grupos foram comparados através do teste t para amostras independentes. As comparações foram em relação à antes do exercício, depois do exercício e ao delta (depois do exercício menos antes do exercício).

A tabela 27 compara a atividade da enzima SOD entre os grupos na intensidade LV1 em relação a antes e depois do exercício e ao delta. A figura 30 apresenta a atividade da enzima SOD antes e depois do exercício, entre os grupos, na intensidade LV1.

Tabela 27 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade LV1

LV1	treinado	não treinado	p
antes	8,84 ± 1,04	8,35 ± 0,85	0,723
depois	9,18 ± 1,02	9,23 ± 1,03	0,968
delta	0,33 ± 0,45	0,88 ± 0,39	0,378

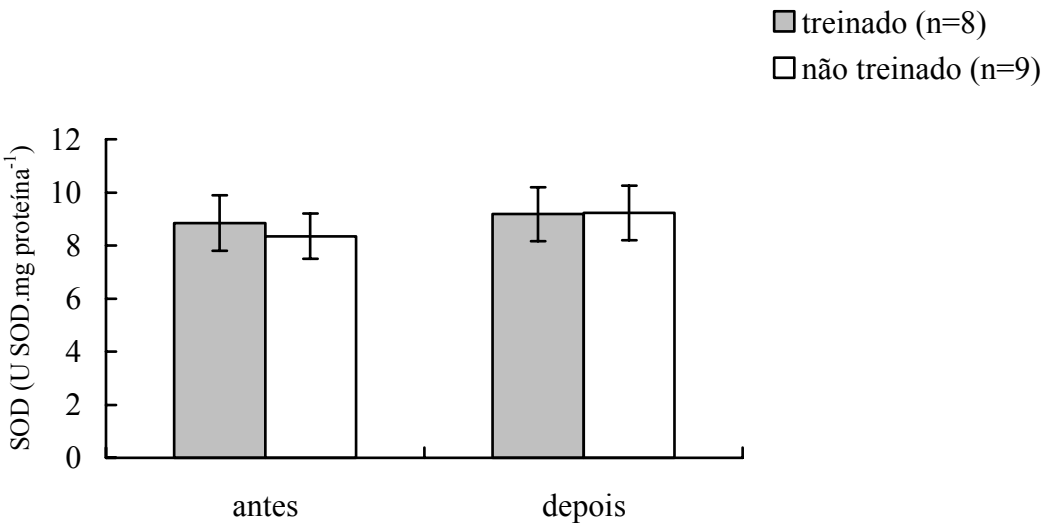

Figura 30 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) entre os grupos, antes e depois do exercício na intensidade LV1.

A tabela 28 compara os grupos na intensidade LV2 em relação a antes e depois do exercício e ao delta. Os dados referentes ao delta da atividade da SOD no grupo não treinado não passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk, portanto neste caso o teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney (não paramétrico) foi utilizado. A figura 31 apresenta a comparação da atividade da enzima SOD entre os grupos na intensidade LV2.

Tabela 28 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade LV2

LV2	treinado	não treinado	p
antes	8,81 ± 0,70	8,89 ± 0,98	0,945
depois	9,63 ± 1,01	10,44 ± 0,86	0,553
delta	0,82 ± 0,72	1,54 ± 0,50	0,441

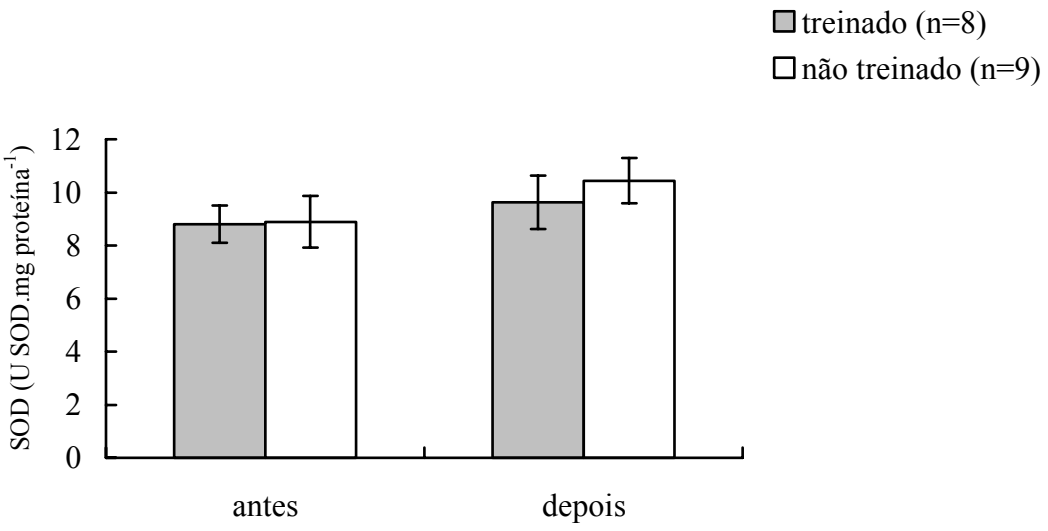

Figura 31– Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) entre os grupos, antes e depois do exercício na intensidade LV2.

A tabela 29 compara a atividade da enzima SOD entre os grupos na intensidade AnM, em relação a antes e depois do exercício e ao delta. A figura 32 apresenta a comparação da atividade da enzima SOD antes e depois do exercício, entre os grupos, na intensidade AnM.

Tabela 29 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade AnM

AnM	treinado	não treinado	p
antes	7,98 ± 1,04	8,98 ± 0,54	0,380
depois	9,30 ± 1,42	10,43 ± 1,06	0,529
delta	1,32 ± 0,62	1,44 ± 1,11	0,932

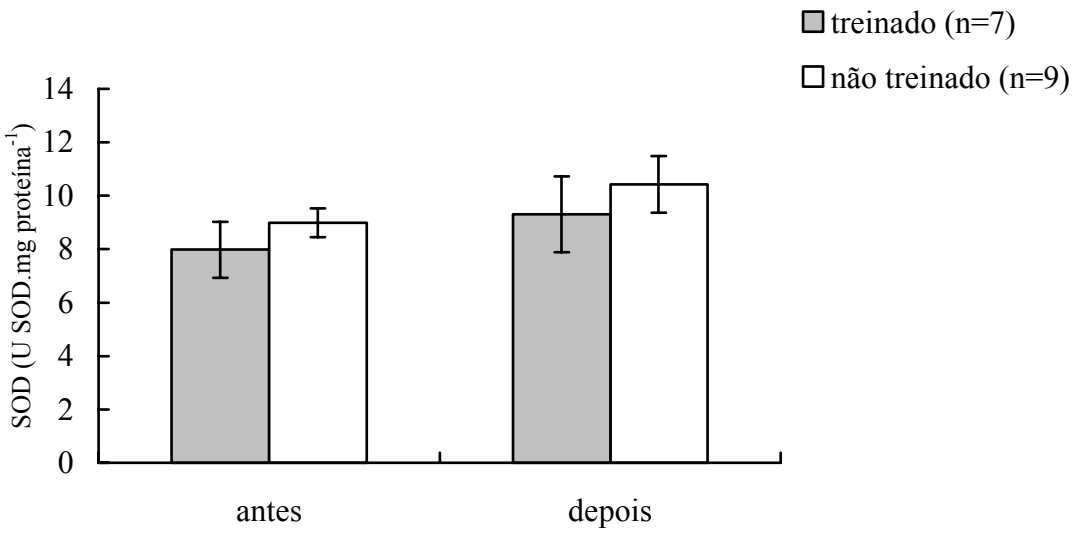

Figura 32 – Atividade da enzima SOD (U SOD.mg proteína^{-1}) entre os grupos, antes e depois do exercício na intensidade AnM.

4.4.4. Catalase (CAT)

A tabela 30 e a figura 33 apresentam os valores da atividade da enzima CAT, para o grupo treinado antes e depois do exercício, obtidos através do teste t pareado, nas três cargas de trabalho. Os dados referentes à antes e depois do exercício na intensidade LV1, e depois do exercício na intensidade LV2 apresentaram comportamento não paramétrico, portanto para estas situações o teste estatístico utilizado foi o de Mann-Whitney. Não houve diferença estatisticamente significativa entre antes e depois do exercício em nenhuma intensidade neste grupo.

Tabela 30 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre antes e depois do exercício no grupo treinado

intensidade (n)	antes	depois	p
LV1 (8)	0,384 ± 0,057	0,362 ± 0,055	0,575
LV2 (8)	0,337 ± 0,024	0,378 ± 0,036	0,262
AnM (7)	0,328 ± 0,038	0,367 ± 0,052	0,213

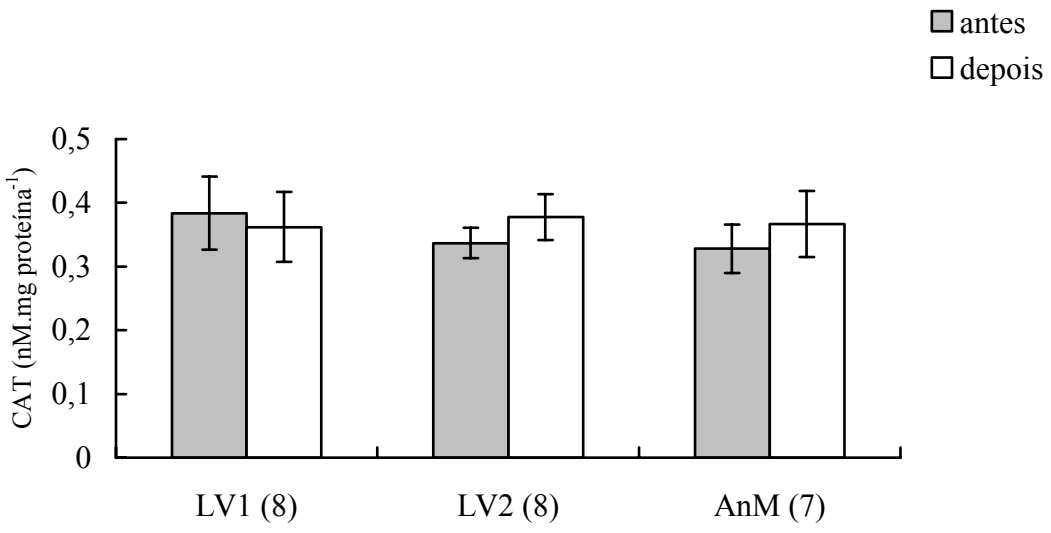

Figura 33 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre antes e depois do exercício no grupo treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.

A tabela 31 e a figura 34 apresentam os valores da atividade da enzima CAT antes e depois do exercício, obtidos através do teste t pareado, para o grupo não treinado nas três cargas de trabalho. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa depois do exercício em nenhuma intensidade.

Tabela 31 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre antes e depois do exercício no grupo não treinado

intensidade (n)	antes	depois	p
LV1 (9)	0,396 ± 0,036	0,421 ± 0,044	0,622
LV2 (9)	0,375 ± 0,04	0,381 ± 0,037	0,873
AnM (9)	0,378 ± 0,041	0,344 ± 0,041	0,482

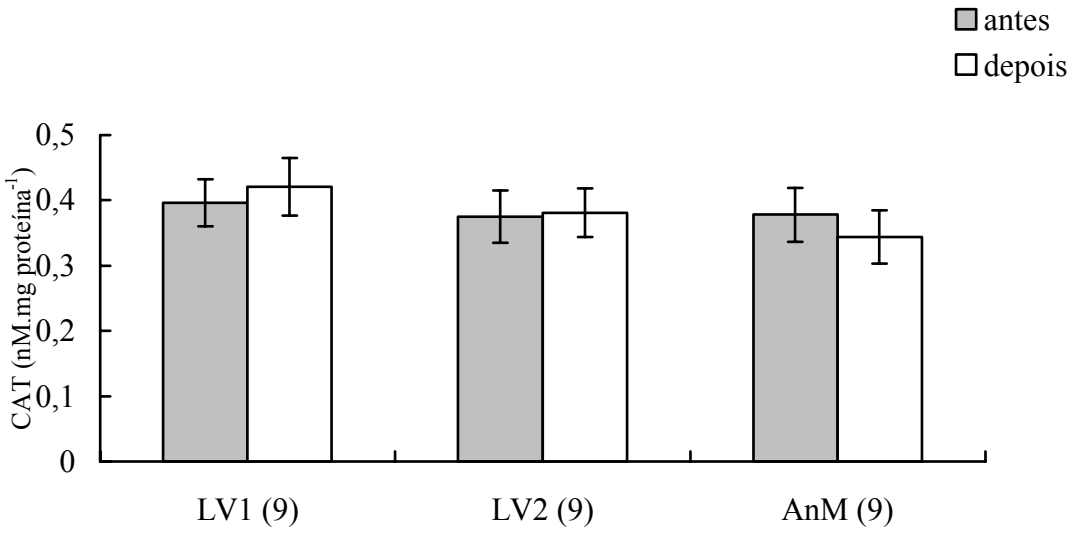

Figura 34 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre antes e depois do exercício no grupo não treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.

Os resultados a seguir referem-se às intensidades LV1, LV2 e AnM respectivamente. Os grupos foram comparados através do teste t para amostras independentes. As comparações foram em relação à antes do exercício, depois do exercício e ao delta (depois do exercício menos antes do exercício). No caso do grupo treinado na intensidade LV1, tanto antes quanto depois do exercício os dados não passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk, portanto os valores de p apresentados são referentes ao teste não paramétrico de Mann-Whitney.

A tabela 32 compara a atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade LV1 em relação a antes e depois do exercício e ao delta. A figura 35 compara a atividade da enzima CAT entre os grupos, em relação a antes e depois do exercício, na intensidade LV1. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Tabela 32 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade LV1

LV1	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
antes	0,348 ± 0,057	0,396 ± 0,036	0,501
depois	0,362 ± 0,055	0,421 ± 0,044	0,210
delta	-0,021 ± 0,032	0,025 ± 0,05	0,450

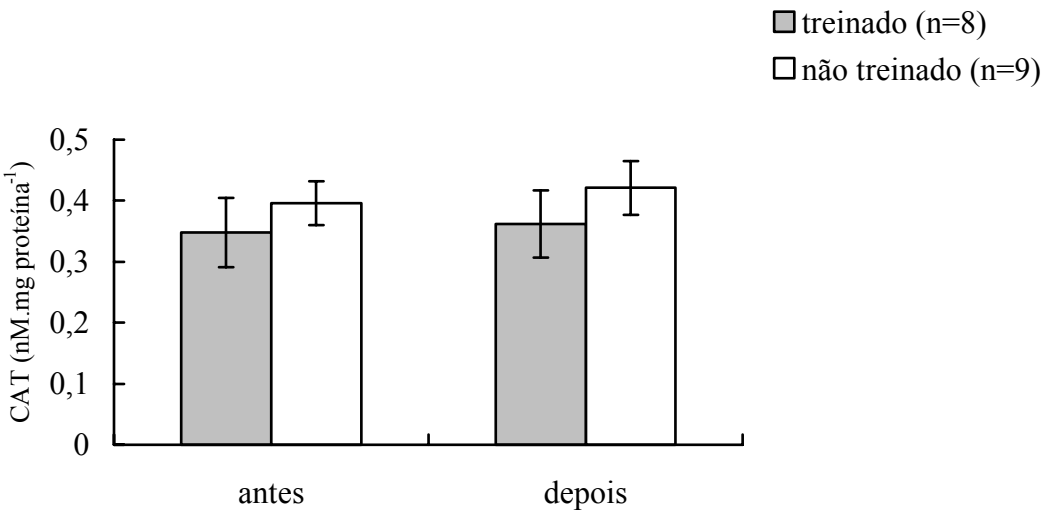

Figura 35 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade LV1.

A tabela 33 compara a atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade LV2. Os dados do grupo treinado nesta intensidade, depois do exercício, não passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk, portanto o valor de p apresentado refere-se ao teste não paramétrico de Mann-Whitney. A figura 36 mostra a atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade LV2. Não houve diferença estatisticamente significativa depois do exercício entre os grupos.

Tabela 33 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade LV2

LV2	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
antes	0,337 ± 0,020	0,375 ± 0,044	0,475
depois	0,378 ± 0,036	0,381 ± 0,037	0,923
delta	0,041 ± 0,042	0,006 ± 0,041	0,557

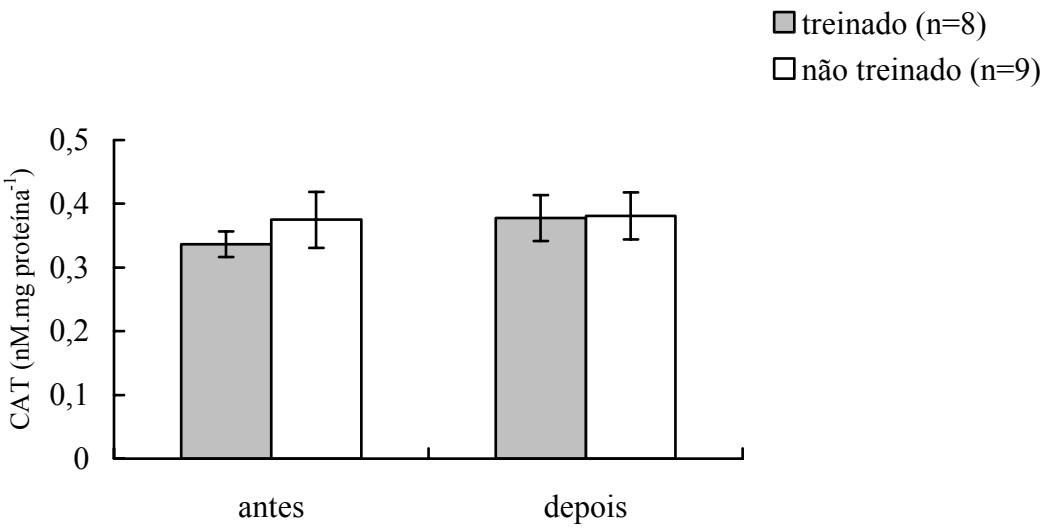

Figura 36 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade LV2.

A tabela 34 e a figura 37 apresentam os resultados da atividade da enzima CAT entre os grupos na intensidade AnM. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Tabela 34 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade AnM

AnM	treinado (n=7)	não treinado (n=9)	p
antes	0,328 ± 0,038	0,378 ± 0,041	0,396
depois	0,367 ± 0,052	0,344 ± 0,041	0,724
delta	0,039 ± 0,028	-0,034 ± 0,047	0,232

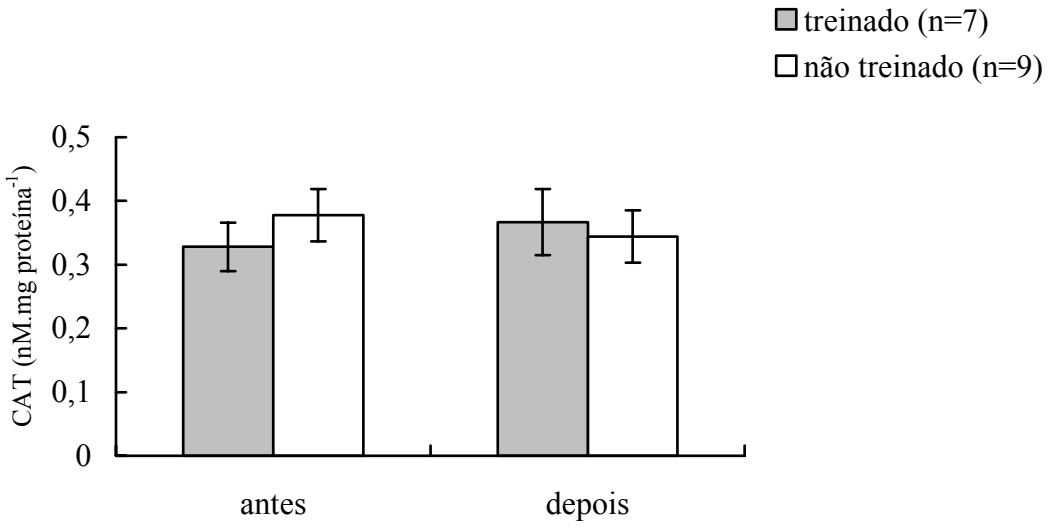

Figura 37 – Atividade da enzima CAT (nM.mg proteína^{-1}) entre os grupos na intensidade AnM.

4.4.5. Glutationa peroxidase (GPx)

A tabela 35 e a figura 38 apresentam os resultados da atividade da enzima GPx, obtidos através do teste t pareado, para o grupo treinado antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho. Os dados referentes ao grupo treinado na intensidade AnM depois do exercício apresentaram comportamento não paramétrico, portanto o teste estatístico utilizado neste caso foi o de Mann-Whitney. Não houve nenhuma diferença significativa para este grupo.

Tabela 35 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) entre antes e depois do exercício no grupo treinado

intensidade	antes	depois	p
LV1 (8)	24,29 ± 7,54	18,57 ± 3,84	0,319
LV2 (8)	24,75 ± 5,37	25,90 ± 3,79	0,864
AnM (7)	19,12 ± 4,67	21,75 ± 4,91	0,612

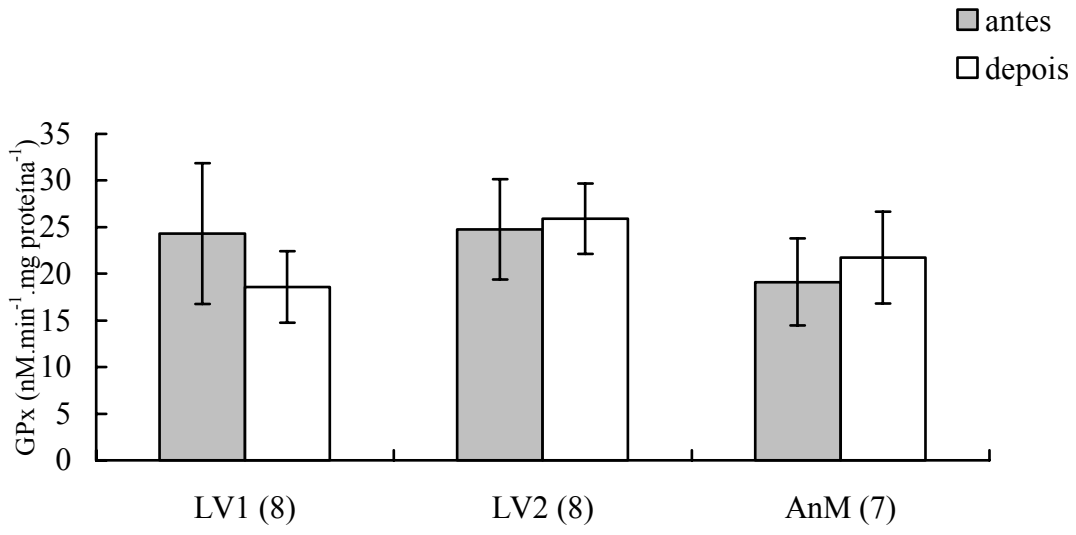

Figura 38 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) entre antes e depois do exercício no grupo treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.

A tabela 36 e a figura 39 apresentam os resultados da atividade da enzima GPx, obtidos através do teste t pareado, para o grupo não treinado antes e depois do exercício nas três cargas de trabalho. O comportamento dos dados referentes ao grupo não treinado na intensidade LV1 antes do exercício não foi paramétrico, portanto o teste estatístico utilizado foi o de Mann-Whitney. Não houve diferença significativa depois do exercício em nenhuma intensidade.

Tabela 36 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) no grupo não treinado

intensidade	antes	depois	p
LV1 (9)	14,79 ± 4,88	17,00 ± 3,74	0,313
LV2 (9)	22,05 ± 5,05	15,05 ± 3,23	0,061
AnM (9)	11,34 ± 2,06	12,11 ± 2,46	0,726

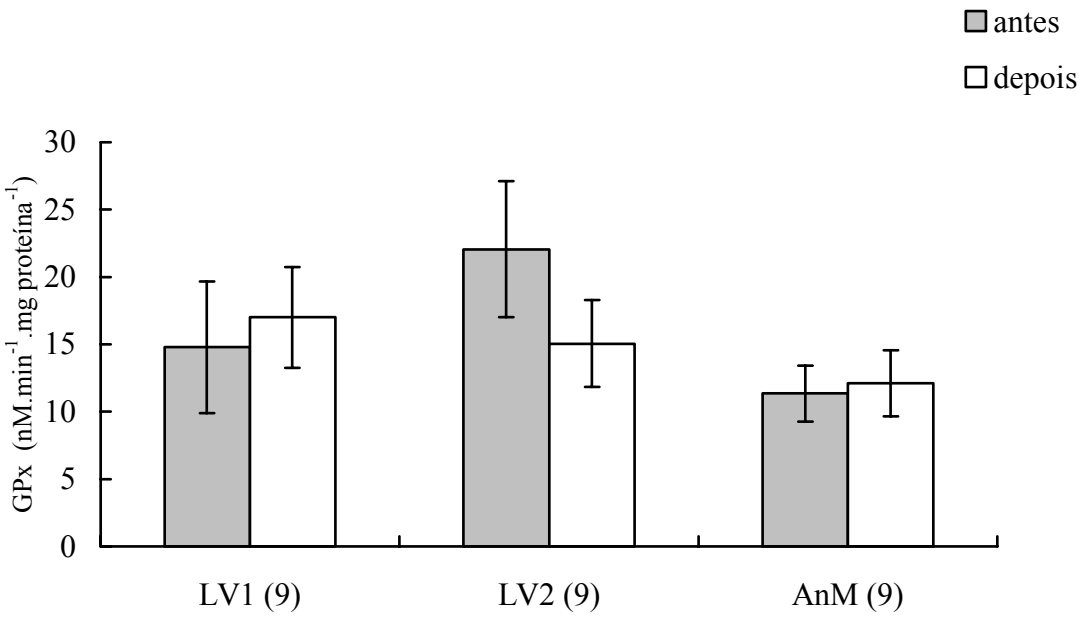

Figura 39 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) no grupo não treinado. Os números entre parênteses referem-se ao n.

Os resultados a seguir referem-se às intensidades LV1, LV2 e AnM respectivamente. Os grupos foram comparados através do teste t para amostras independentes. As comparações foram em relação à antes do exercício, depois do exercício e ao delta (depois do exercício menos antes do exercício). Os dados do grupo não treinado antes do exercício em LV1 não passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk, portanto o valor de p neste caso foi obtido a partir do teste não paramétrico de Mann-Whitney.

A tabela 37 e a figura 40 apresentam a atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade LV1. Não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos nesta intensidade.

Tabela 37 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) entre os grupos na intensidade LV1

LV1	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
antes	24,29 ± 7,54	14,79 ± 4,88	0,386
depois	18,57 ± 3,84	17,00 ± 3,74	0,774
delta	-5,72 ± 5,33	2,20 ± 5,26	0,309

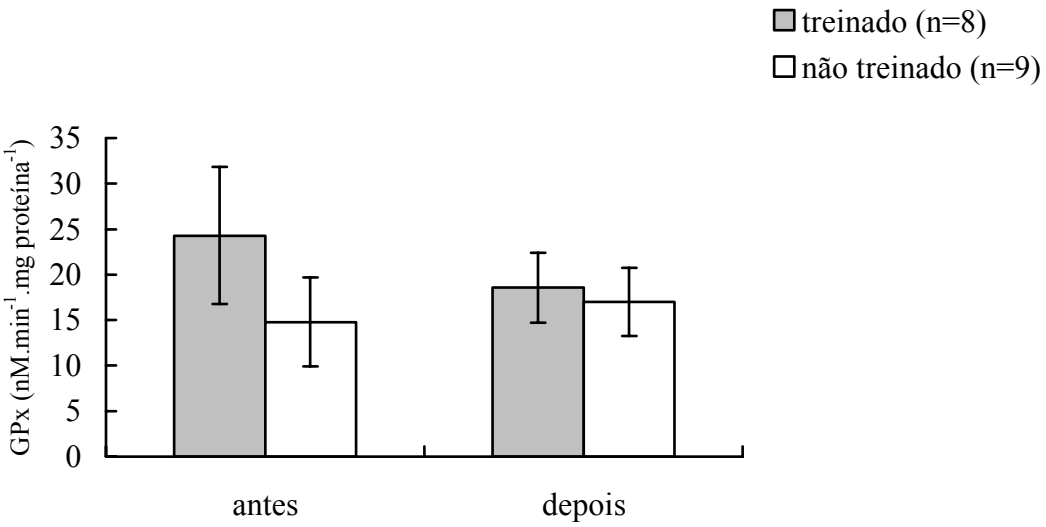

Figura 40 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) entre os grupos na intensidade LV1.

A tabela 38 e a figura 41 apresentam a atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade LV2. Pode-se observar uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos depois do exercício na intensidade LV2. A atividade da enzima se apresentou aumentada no grupo treinado.

Tabela 38 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) entre os grupos na intensidade LV2

LV2	treinado (n=8)	não treinado (n=9)	p
antes	24,75 ± 5,37	22,05 ± 5,05	0,720
depois	25,90 ± 3,79	15,05 ± 3,23	0,045
delta	1,15 ± 6,49	-7,00 ± 3,21	0,262

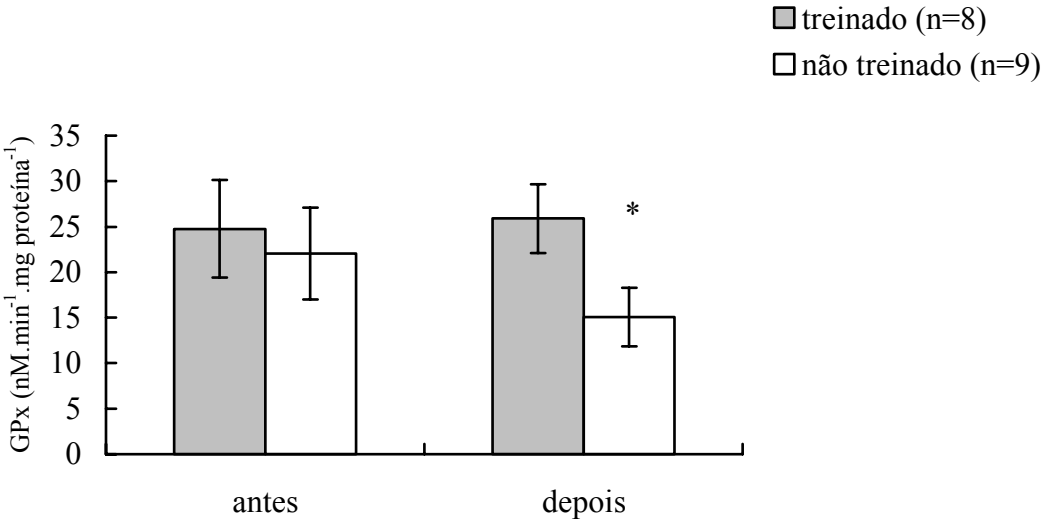

Figura 41 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) entre os grupos, na intensidade LV2, * $p<0,05$ entre os grupos.

A tabela 39 e a figura 42 apresentam a atividade da enzima GPx entre os grupos na intensidade AnM. Como os valores da atividade da GPx depois do exercício no grupo treinado não passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk, o valor de p apresentado refere-se ao teste não paramétrico de Mann-Whitney. Da mesma forma o comportamento do delta no grupo não treinado apresentou comportamento não paramétrico, e o teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney foi utilizado. Houve diferença significativa entre os grupos depois do exercício. A atividade da enzima se apresentou aumentada no grupo treinado.

Tabela 39 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) entre os grupos na intensidade AnM

AnM	treinado (n=7)	não treinado (n=9)	p
antes	19,12 ± 4,67	11,34 ± 2,06	0,121
depois	21,75 ± 4,91	12,11 ± 2,46	0,030
delta	2,63 ± 4,66	0,76 ± 2,10	0,957

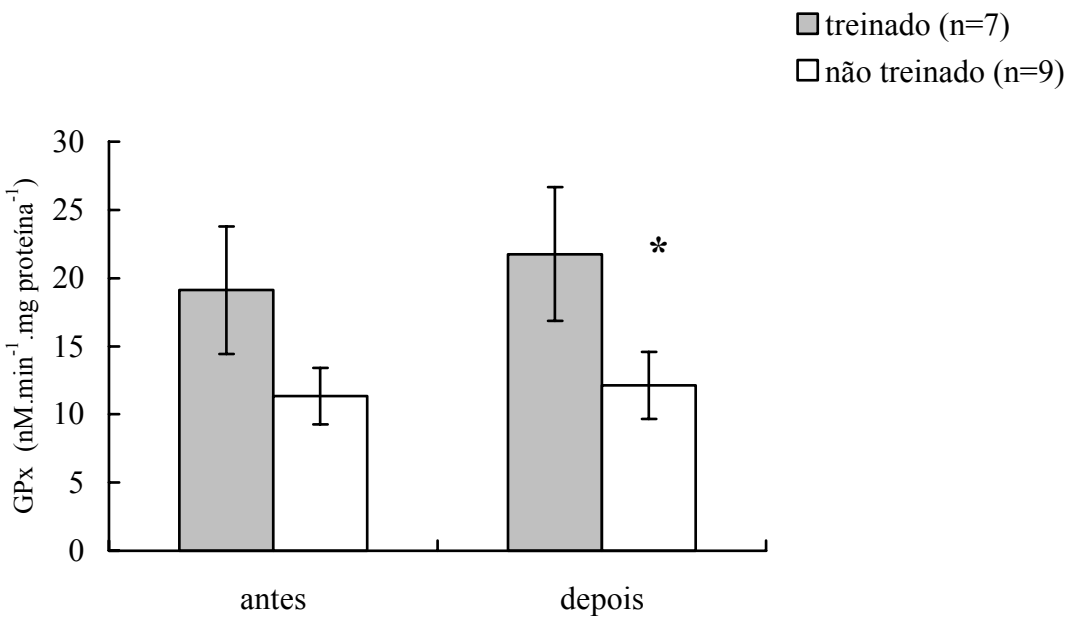

Figura 42 – Atividade da enzima GPx ($nM.min^{-1}.mg\ proteína^{-1}$) entre os grupos, na intensidade AnM, * $p<0,05$ entre os grupos.

5. DISCUSSÃO

5.1. Características dietéticas

Uma alimentação equilibrada é composta por aproximadamente 55 a 60% de carboidratos, 20 a 30% de lipídeos e 15 a 20% de proteínas (McARDLE *et al*., 1996; ROBERGS, 1997; WEINECK, 1999). A distribuição dos macronutrientes no grupo treinado se apresentou adequada. A ingesta calórica e o percentual de carboidratos ingeridos se apresentaram significativamente elevados no grupo treinado, o que está de acordo com seu gasto calórico em função do maior volume de treino semanal.

O grupo não treinado consumiu menos carboidratos e mais lipídeos do que o recomendado.

Em relação a ingesta protéica, temos dois parâmetros a analisar:

1) percentual de proteínas: os resultados se apresentaram adequados para ambos os grupos, com a diferença de que ao comparar os grupos os indivíduos não treinados consumiram mais proteínas do que os treinados. Uma explicação parcial para isto se deve ao fato de que os atletas que praticam um esporte de cunho aeróbio necessitam e ingerem um percentual maior de carboidratos em sua alimentação (JACOBS, 1999), o que naturalmente leva a uma redução na percentagem de proteínas e lipídios da dieta.

2) gramas de proteína por quilograma de massa corporal ($g.kg^{-1}$): expressam a necessidade protéica em relação à massa corporal do indivíduo (ROBERGS, 1997). Estatisticamente não houve diferença significativa na ingesta de proteína por quilograma de massa corporal entre os grupos, mas a recomendação para indivíduos sedentários é de 0,8 $g.kg^{-1}$ (RDA, 1989), e a ingesta média deste grupo foi 1,68 $g.kg^{-1}$, ou seja, o dobro da necessidade. Pode-se concluir que, tanto em termos percentuais quanto em relação a gramas

de proteína por quilograma de massa corporal, o grupo não treinado ingeriu mais proteína do que o recomendado. Provavelmente a característica regional de grande consumo de carne bovina deva ser o motivo destes resultados. Os indivíduos treinados em resistência aeróbia possuem uma necessidade protéica superior aos não treinados, entre 1,6 a 2 $g.kg^{-1}$ (LEMON, 1991; HOUTKOOPER, 1992). A ingesta protéica média do grupo foi de 2,07 $g.kg^{-1}$, ou seja, adequada às necessidades.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre o número de quilocalorias (kcal) ingeridas pela alimentação e gastas com exercício em nenhum grupo, mas os indivíduos treinados apresentaram um delta de –861,66 kcal, enquanto a diferença para os indivíduos não treinados foi de –57,29 kcal. Estes resultados mostram que, em média, os indivíduos treinados têm um consumo calórico inadequado para as suas necessidades podendo levar à queda de desempenho e provocar o aparecimento de sintomas de *overtraining*, por interferir na reposição dos estoques de glicogênio dos indivíduos (WEINECK, 1999).

5.2. Testes na esteira rolante

Este estudo utilizou o método dos limiares ventilatórios para determinar a intensidade de exercício relativa a cada indivíduo ao invés de utilizar um percentual do consumo máximo de oxigênio como intensidade absoluta (SIMON *et al.*, 1986; SCHNEIDER *et al.*, 1990; RIBEIRO, 1995; LUCÍA *et al.*, 2000). Sendo assim, cada indivíduo estava a um diferente percentual do consumo máximo de oxigênio, representando uma mesma intensidade. Observou-se no grupo treinado que o limiar anaeróbio ocorreu em média a 83,4% do $\dot{V}O_{2máx}$ e no grupo não treinado a 85,5% do $\dot{V}O_{2máx}$. Os percentuais

mínimo e máximo dentro de cada grupo ocorreram a 72,3% e 89,5% do $\dot{V}O_{2máx}$ no grupo treinado, e 75% e 94,3% do $\dot{V}O_{2máx}$ no grupo não treinado. Estes resultados mostram que existe uma variabilidade entre os indivíduos, que não sendo considerada, pode alterar os resultados.

Após calcular o consumo alvo (esperado), que relativizava a intensidade de exercício para cada indivíduo, a velocidade do teste era calculada visando estabilizar o consumo de oxigênio em dada carga de trabalho. Conforme os testes estatísticos realizados, o consumo de oxigênio alcançado em todos os testes não diferiu do consumo alvo. Desta forma, pudemos concluir que as intensidades estavam adequadas aos nossos objetivos.

Em relação à freqüência cardíaca, dentro do grupo não treinado, os batimentos foram significativamente maiores de acordo com a intensidade dos testes. Já no grupo treinado, a diferença ocorreu somente quando se comparou a intensidade mais baixa (LV1) à intensidade intermediária (LV2) e à alta (AnM). Entre LV2 e AnM, não houve diferença significativa entre os batimentos. Isto pode ser explicado pela teoria de Conconi *et al.* (1982), que mostra a existência de uma deflexão na curva de freqüência cardíaca após o limiar anaeróbio em indivíduos treinados.

Além disso, a velocidade média dos testes foi maior no grupo treinado em todas as intensidades, e houve uma redução significativa no peso de todos os indivíduos depois do exercício.

5.3. Quimiluminescência (QL)

Os ácidos graxos poliinsaturados nas membranas celulares são um dos principais alvos de ataque das espécies reativas de oxigênio. Neste trabalho, foi utilizada a técnica da quimiluminescência, um importante método indireto de quantificação de lipoperoxidação.

Analisando o grupo treinado, observou-se uma redução da QL nos eritrócitos após o exercício de alta intensidade, demonstrando uma menor lipoperoxidação após o exercício. Nossos resultados estão de acordo com Subudhi (2001), apesar das diferentes técnicas de detecção, mas vão contra a teoria de que quanto maior a intensidade maior a LPO, proposta por diversos autores, entre eles Lovlin *et al*. (1987), Dalsky (1989) e Ebbeling (1989). O fato da capacidade antioxidante total (TRAP) ter se apresentado elevada nesta mesma carga de trabalho sugere que o estresse fisiológico nesta intensidade pode ter resultado em uma liberação de substâncias antioxidantes no plasma, assim como no estudo de Child *et al.* (1998), a fim de combater as ERO. Dentre as substâncias antioxidantes, está o ácido úrico, que conforme Ames *et al.* (1981), ajuda a suprimir a LPO nos eritrócitos.

Em um estudo avaliando triatletas, os níveis de TBARS plasmáticos não se modificaram logo após uma prova de longa distância, mas seis horas após o final da prova, estes valores se apresentaram significativamente mais baixos em comparação aos níveis basais (MARGARITIS *et al.*, 1997). Assim como o trabalho de Dufaux *et al.* (1997) que não mostrou alterações nos níveis de TBARS no plasma de indivíduos moderadamente treinados após duas horas e meia de corrida (DUFAUX *et al.*, 1997).

Conforme Ashton *et al.* (1998), existe um método capaz de medir a evidência direta de envolvimento de RL denominada espectroscopia de ressonância eletrônica de spin (ESR). Utilizando esta técnica, os autores foram capazes de demonstrar um incremento significativo na intensidade do sinal ESR após o exercício. Outros dois métodos indiretos

também foram analisados no mesmo trabalho e encontraram aumento de LPO. O aumento na concentração de RL medido por espectroscopia ESR foi três vezes maior comparado as outras duas técnicas. Outro achado importante deste estudo foi que os maiores incrementos no ESR se deram nos indivíduos com $\dot{V}O_{2máx}$ mais elevado, que por sua vez permaneceram mais tempo no cicloergômetro e assim estiveram expostos a um fluxo de oxigênio muito maior.

Estudando esquiadores, a LPO medida em sangue pelo método indireto dos dienos conjugados se apresentou maior tanto antes quanto depois do exercício em altitude moderada (1650m) comparado com exercício ao nível do mar. É importante citar que a exposição à altitude pode apresentar outros fatores, como a radiação ultravioleta, que levam a um aumento na LPO (VASANKARI *et al.,* 1997).

Também foi encontrado aumento na LPO medida pelo método do malondialdeído, após uma meia maratona simulada, com duração média de 87 minutos e intensidade média de 77,1% do pico $\dot{V}O_2$ (CHILD *et al.*, 1998). Esta intensidade se aproxima do nosso LV2, mas o tempo de duração do exercício a que foram expostos os nossos atletas foi de 40 minutos. Talvez o tempo de exercício em nosso estudo não tenha sido suficientemente longo para causar desequilíbrio nos sistemas pró e antioxidantes e assim causar estresse oxidativo. Isto também pode ter ocorrido na intensidade baixa, pois, além de não haver diferença na LPO, não houve diferença nos parâmetros antioxidantes.

Um outro estudo aponta para a ocorrência do aumento na LPO após exercício extenuante medida pelo método do TBARS em fígado, coração e músculo esquelético de ratos treinados e não treinados (VENDITTI, 1997).

Não encontramos mudanças na QL no grupo não treinado em nenhuma carga de trabalho ao comparar os grupos. Os trabalhos geralmente submetem indivíduos treinados em diversos esportes a protocolos de exercício também distintos. Em relação a indivíduos não treinados, encontramos o trabalho de Balakrishnan (1998), que avaliou a LPO em sangue através das técnicas indiretas do TBARS e dos dienos conjugados, e observou que os indivíduos treinados em três diferentes esportes apresentaram níveis mais altos de LPO comparados aos não treinados. Diferente de Selamoglu *et al.* (2000), que mostraram que corredores de longa distância apresentavam níveis de LPO menores que o grupo controle. Nosso trabalho não foi capaz de demonstrar alterações na LPO, talvez em função dos diferentes métodos de detecção, ou por termos estudado um grupo homogêneo de atletas em relação ao esporte. O fato de Balakrishnan ter unido futebol, hóquei e corrida de longa distância pode ter influenciado as respostas oxidativas.

Estudos em animais como o de Jenkins (1988), demonstraram que uma sessão aguda de exercício em ratos não treinados aumentava a LPO tecidual. Da mesma forma, Dalsky (1989) comprovou que o exercício fatigante provocava aumento de ERO no músculo e no fígado de ratos destreinados, e Jackson *et al.* (1985), mostraram que em camundongos, músculos eletricamente estimulados por 30 minutos apresentaram uma maior quantidade de ERO.

A ausência de mudanças na QL após o treinamento de quatro semanas em ratos treinados em comparação a ratos sedentários ocorreu em um trabalho estudando músculo esquelético e coração (BELLÓ-KLEIN *et al.*, 2000). Analisando a situação por outro ângulo, uma falha em detectar qualquer mudança na LPO, pode sugerir que algumas mudanças compensatórias no sistema antioxidante possam ter ocorrido. Neste ponto, foi

encontrada em nosso trabalho atividade aumentada da enzima SOD nas intensidades LV1 e LV2, e aumento do TRAP nas intensidades LV1 e AnM no grupo não treinado.

Em um estudo com músculo gastrocnêmio de ratos, a LPO medida através da técnica do TBARS não foi significativamente diferente entre o grupo controle e o grupo que sofreu treinamento diário por seis semanas (RADÁK *et al.*, 1999). Por outro lado, Marzatico *et al.* (1997), demonstraram níveis basais de MDA mais altos em atletas comparados ao grupo controle.

Ao contrário, no trabalho de Itoh *et al.* (1998), os autores observaram níveis plasmáticos basais do radical hidroxil menores em ratos treinados em resistência aeróbia. Eles observaram também que a redução foi maior no grupo que treinou em menor intensidade e maior duração, concluindo que a capacidade *scavenger* pode ser aumentada pelo treinamento. Outros dois trabalhos, também verificaram redução nos níveis de LPO medida por TBARS, no coração de ratos submetidos a 11 semanas de treinamento comparado ao controle (DE ANGELIS *et al.,* 1997; RABBO, 2001). Além disso, o mesmo trabalho de Rabbo (2001), obteve um achado interessante, onde o grupo que treinava uma vez por semana, considerado "atleta de fim de semana", teve aumento na QL comparado ao grupo sedentário. Isto poderia levar a especulação de que os danos causados por radicais livres em indivíduos que se exercitam uma vez na semana poderiam ser maiores do que não se exercitar, pois esta freqüência semanal não foi capaz de induzir adaptações no sistema antioxidante.

As ERO podem atacar proteínas e DNA além de atingir os ácidos graxos das membranas celulares. Conforme o estudo de Radák *et al.* (1999), o fato de as mudanças nos índices de dano oxidativo medidos não serem consistentes em DNA, proteínas e lipídeos, indica que o EO causado pelo exercício regular afeta as macromoléculas ou seus sistemas

de reparo diferentemente. O grau de estresse oxidativo e de dano muscular não dependem somente da intensidade absoluta do exercício, mas do grau de exaustão da pessoa que realiza o exercício. Além disso, o treinamento previne parcialmente a formação de RL no exercício exaustivo (VIÑA, *et al.,* 2000).

Ao analisar isoladamente os dados da QL na alta intensidade, a hipótese 1 de que tal intensidade causaria aumento no EO não se confirmou. Por outro lado, se observarmos que ao mesmo tempo houve aumento do TRAP nesta intensidade, podemos supor que este aumento foi suficiente para combater o fluxo radicalar, provocando ainda, a diminuição de QL. A hipótese 3 pode ser confirmada pois propõe que não ocorrem mudanças na QL em baixa intensidade. Por último, a hipótese 4 de que indivíduos não treinados apresentam maior EO após o exercício independente da intensidade não foi confirmada.

5.4. Capacidade antioxidante total (TRAP)

O TRAP corresponde à capacidade combinada de todos os antioxidantes não enzimáticos hidrossolúveis plasmáticos (entre eles urato, ascorbato, glutationa) para neutralizar os RL.

Foi observado um efeito principal do exercício sobre a capacidade antioxidante total, que se mostrou significativamente aumentada após o exercício. Além disto, decompondo este efeito principal, se observou através do teste t pareado, aumento do TRAP na intensidade AnM no grupo treinado, e nas intensidades LV1 e AnM no grupo não treinado.

De acordo com o nosso achado, Child *et al.*(1998), também encontraram aumento da capacidade antioxidante após uma corrida de meia maratona simulada, com duração

média de 87 min e intensidade média de 77,1% do $\dot{V}O_2$ de pico. A técnica de detecção foi similar à utilizada em nosso estudo. Se analisarmos a intensidade do exercício empregada no estudo de Child, podemos dizer que correspondia ao LV2 de nosso estudo. Em relação à duração, os maratonistas correram o dobro do tempo, o que pode ter levado a uma liberação de antioxidantes no plasma. Dentre os AO o aumento predominante do ácido úrico tem sido considerado como uma resposta benéfica ao exercício e pode ser resultado tanto de uma produção aumentada de ácido úrico e/ou uma inibição do *clearance* renal de ácido úrico induzida pelo lactato (CHILD *et al.*, 1998). Na intensidade LV2, provavelmente os antioxidantes lançados no plasma foram consumidos para manter um equilíbrio metabólico, que pode ser sugerido em função da ausência de aumento tanto de lipoperoxidação quanto de substâncias AO nesta intensidade. Se formos refletir sobre o aumento no TRAP na alta intensidade, é possível que o maior esforço para correr em velocidades mais altas com maior consumo de oxigênio tenha conduzido a uma maior liberação de antioxidantes, que não foram consumidos devido ao reduzido tempo de realização do exercício, em torno de 15 minutos. Outra forma de exercício extenuante como correr 50 km, também levou a aumento de ácido úrico no plasma (MASTALOUDIS *et al.*, 2001).

O trabalho de Vasankari *et al.* (1997), com esquiadores em altitude moderada (1650m), mostra que o TRAP aumentou em 40% após o exercício, o que pode estar relacionado ao metabolismo energético alterado nas pessoas submetidas à hipóxia, já que os mesmos atletas quando se exercitaram ao nível do mar não mostraram diferenças.

Subudhi *et al.* (2001), avaliando o TEAC no plasma (capacidade antioxidante equivalente em trolox medida colorimetricamente), observaram que estas substâncias aumentaram após o exercício de agachamento com sobrecarga de peso. Além destes

trabalhos, Powers *et al.* (1999), cita três estudos que investigaram a capacidade antioxidante em músculos treinados, *in vitro*, obtendo resultado positivo em relação à proteção contra o EO.

Após estes achados, pode-se concordar com Powers *et al*., (1999), quando diz que o treinamento físico habitual de alta intensidade necessário para o nível de competição de elite pode aumentar as defesas antioxidantes.

Nosso trabalho também encontrou diferenças positivas no TRAP no grupo não treinado. Da mesma forma Ashton *et al.* (1998), estudando não atletas ($\dot{V}O_{2máx}$ 49,4 ± 2,7 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$) após exercício exaustivo em cicloergômetro, observaram aumento da capacidade antioxidante total, medida por método semelhante, mas este aumento não foi significativo. Em nosso trabalho, a alta intensidade (AnM) pode ser considerada como exaustiva, pois os sujeitos correram somente o tempo que suportaram a carga, e houve diferença significativa no TRAP após o exercício.

Não foi encontrada diferença quando comparamos os grupos tanto antes quanto depois do exercício. Já no trabalho de Bergholm *et al.* (1999), as concentrações de ácido úrico em maratonistas eram menores em relação a indivíduos não treinados. Além disso, o treinamento de três meses com intensidade de moderada a alta, depletou significativamente todos AO do plasma, exceto o ascorbato. Neste mesmo trabalho, os autores estimaram a contribuição de cada antioxidante ao TRAP, após um período de treinamento de três meses, e observaram que todos antioxidantes, exceto o ascorbato, diminuíram significativamente. O aumento no ascorbato compensou a redução nos outros AO do plasma, pois o TRAP calculado a partir da soma dos mesmos não se modificou.

Analisando o aspecto nutricional, Pirisi *et al.* (1999), apresentaram um achado relevante, que foi a redução significativa do TRAP após a ingestão de uma refeição padrão (composta por 53,3% carboidratos, 16,7% proteínas, 30% lipídeos, 8,4mg ferro, 10,4 mg zinco, 1 mg cobre, 632 μg vit.A, 100mg vit.C, 19,2mg vit.E). Evidências de estresse oxidativo parecem estar associadas com a liberação de insulina no sangue, utilização de glicose pelas células e síntese e liberação de triacilgliceróis. Provavelmente, a disponibilidade de substratos para a mitocôndria aumente a taxa de autooxidação dos componentes da cadeia respiratória mitocondrial, que geram o ânion superóxido. Portanto, as defesas antioxidantes do plasma são necessárias no período pós absortivo para controlar os RL liberados em excesso. Ceriello (1997), também relata que uma hiperglicemia aguda pós-prandial leva ao estresse oxidativo, por levar à depleção do TRAP. Estas colocações nos fazem questionar se a refeição padrão que foi oferecida a todos os indivíduos em nosso estudo, uma hora antes dos testes pode ter influenciado nossos resultados. Como o TRAP não apresentou redução depois do exercício em nenhuma intensidade para nenhum grupo, podemos sugerir que este tipo de interferência não ocorreu em nosso estudo.

Em relação às hipóteses, nossos resultados foram capazes de confirmar parte da hipótese 2 que propunha aumento do TRAP em alta intensidade, mas não confirmam a hipótese 3 que propunha que baixas intensidades não alterariam os parâmetros bioquímicos, e nós observamos aumento do TRAP no grupo não treinado em LV1; e a hipótese 5 que indivíduos não treinados apresentassem menor capacidade antioxidante em relação a treinados, pois não encontramos diferenças no valores de TRAP entre os grupos.

5.5. Enzima superóxido dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase em eritrócitos foi utilizada como um dos indicadores do perfil antioxidante enzimático. Os eritrócitos contém altas concentrações da enzima CuZnSOD (HALLIWELL, 1999).

O grupo treinado do nosso estudo apresentou uma tendência de aumento na atividade da SOD, mas não foi significativo. Já no estudo de Marzatico *et al.* (1997) a atividade da SOD nos eritrócitos aumentou após uma corrida de meia maratona. Por outro lado, o trabalho de Subudhi *et al.* (2001), apresentou redução nos níveis sanguíneos de SOD em esquiadores alpinos após um período de 10 dias de treinamento.

Conforme Powers *et al.* (1999), há evidências na literatura em relação ao treinamento de resistência aeróbia aumentar a atividade da SOD. Esta adaptação seria maior na musculatura altamente oxidativa. Jenkins (1984) apud Jenkins (1988) observou uma correlação entre a SOD no músculo vasto lateral humano e o $\dot{V}O_{2máx}$.

Em nosso estudo, foi encontrado aumento significativo da atividade da SOD após o exercício nas intensidades LV1 e LV2 no grupo não treinado. Trabalhos que tenham avaliado a atividade enzimática após exercício em não treinados não foram encontrados. Talvez o protocolo utilizado tenha causado aumento da produção de superóxido nos indivíduos não treinados.

Ao compararmos os grupos treinado e não treinado, não encontramos diferenças na atividade da SOD tanto antes quanto após o exercício, em nenhuma intensidade de exercício, da mesma forma que Selamoglu *et al.* (2000), ao comparar níveis basais desta enzima em eritrócitos entre corredores de longa distância e indivíduos não treinados. Por outro lado, a atividade da SOD se apresentou aumentada no sangue de indivíduos treinados

(MARZATICO *et al.*, 1997; BALAKRISHNAN, 1998) e no coração de ratos treinados (BELLÓ-KLEIN *et al.* 2000) em comparação a não treinados. Este aumento poderia ser atribuído à indução da enzima em resposta a um aumento da produção de ERO.

Subudhi *et al.* (2001) cita em seu trabalho que os estudos envolvendo exercício trazem resultados contraditórios. De toda forma, as alterações que ocorrem com a SOD com o exercício suportam a noção de que ela é uma enzima responsiva ao exercício e necessita mais estudos.

Além dos resultados do estudo de Marzatico *et al.* (1997) citados anteriormente, os autores acompanharam os níveis das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx após dois tipos de exercício em dois grupos distintos de atletas (corredores fundistas e velocistas), após 6h, 12h, 24h e 48h. Os marcadores analisados sofreram variações ao longo do tempo de recuperação, sugerindo que as respostas logo após o exercício podem não representar todas as alterações envolvidas no metabolismo antioxidante. Da mesma forma Margaritis *et al.* (1997), acompanharam os marcadores ao longo do tempo após um triatlo de longa distância não demonstrando qualquer diferença significativa nas enzimas SOD e GPx.

Ashton *et al.* (1998), especulam se uma suplementação AO seria necessária para indivíduos saudáveis submetidos a exercício físico regular, já que a melhora do sistema de defesa AO enzimático que ocorre com o treinamento físico pode não ser suficiente para suprimir o EOIE. Contudo, as pessoas que se exercitam esporadicamente, podem até mesmo ter um risco maior ao EOIE, pois não possuem as adaptações provenientes do treinamento. Rabbo (2001), foi capaz de apresentar dados de lipoperoxidação em coração de ratos, mostrando que os ratos que se exercitavam uma vez por semana tinham maior lipoperoxidação do que ratos sedentários.

Tratando de seres humanos, dado o conteúdo da dieta da população, particularmente os de baixo estado sócio econômico, pode haver uma lacuna na ingesta de nutrientes antioxidantes (ASHTON *et al.,* 1998). Uma sugestão interessante seria estimular o consumo de alimentos ricos em antioxidantes (MARZATICO *et al.,* 1997).

A hipótese 3 que propunha que baixas intensidades de exercício não alterariam os parâmetros bioquímicos foi contraposta pela observação de aumento da SOD no grupo não treinado nesta intensidade. Como não constatamos aumento da SOD nas intensidades LV2 e AnM no grupo treinado, a hipótese 2 não pode ser confirmada. Por último, rejeitamos a hipótese 5 que propunha maiores atividades antioxidantes para os indivíduos treinados.

5.6. Enzima catalase (CAT)

A atividade da enzima catalase em eritrócitos foi usada como uma das medidas do perfil antioxidante enzimático.

Não houve diferença significativa na atividade da enzima catalase eritrocitária neste estudo, independente do grupo e da intensidade.

A literatura possui trabalhos que corroboram este resultado, como o de Balakrishnan (1998), que não observou alteração na atividade da CAT comparando indivíduos treinados e não treinados, e em estudos comparando o coração de ratos treinados por 4 semanas a 50% do $\dot{V}O_{2máx}$ ao grupo controle (BELLÓ-KLEIN *et al.,* 2000).

Por outro lado, Marzatico *et al.* (1997) observaram que corredores fundistas possuíam níveis basais de catalase mais altos, e que velocistas pelo contrário, apresentavam níveis mais baixos, comparados ao controle. Estudando nadadores, Inal *et al.* (2001),

demonstraram tanto para exercício aeróbio quanto anaeróbio que a atividade da CAT estava aumentada após o exercício.

É interessante notar que diversos trabalhos que avaliam o sistema de defesa antioxidante humano, analisam o sistema da glutationa - GSH/GSSG (DUFAUX *et al.,* 1997; ITOH *et al.*, 1998), as enzimas glutationa peroxidase (RAMIRES, 2001) e superóxido dismutase (SUBUDHI *et al.,* 2001), capacidade antioxidante total (VENDITTI *et al.*, 1997; WHITE *et al.*, 2001), mas não incluem a atividade da enzima catalase em seus estudos.

Muitos dos trabalhos realizados com exercício avaliam a capacidade antioxidante do músculo esquelético, e em geral estudam animais pelo fato de serem medidas invasivas. Ji (1992), demonstrou que, em músculo esquelético, uma carga isolada de trabalho exaustivo produzia um aumento de LPO e que a atividade das enzimas GPx, GR, SOD e CAT estavam significativamente aumentadas. Powers *et al.* (1999), cita trabalhos sobre o efeito do treinamento aeróbio na atividade da CAT no músculo esquelético de ratos. Dos trabalhos citados por Powers, três não apresentaram mudanças e dois apresentaram redução da atividade da CAT.

Além disso, a observação de que o treinamento provoca *up regulation* na atividade muscular da SOD e da GPx, mas não da CAT, merece mais estudos (POWERS, 1999). Pode ser que este protocolo não tenha causado aumento de peróxido de hidrogênio e sim de outros peróxidos orgânicos, uma vez que a enzima GPx estava aumentada.

Em relação às hipóteses do estudo, a hipótese 3 foi confirmada para a catalase, pois propunha que não haveria mudança nos parâmetros antioxidantes após o exercício em baixa intensidade, enquanto as hipóteses 2 e 5 foram rejeitadas.

5.7. Enzima glutationa peroxidase (GPx)

A atividade da enzima glutationa peroxidase em eritrócitos foi usada como uma das medidas do perfil antioxidante enzimático.

Conforme Tessier *et al.* (1995), o potencial antioxidante da GPx em eritrócitos pode ser desenvolvido com o treinamento de resistência aeróbia. Resultado confirmado em triatletas por Margaritis *et al.* (1997), pois quanto maior o $\dot{V}O_{2máx}$ maior a atividade da GPx eritrocitária.

Foi encontrado em nosso estudo um efeito principal do condicionamento físico, mostrando que os triatletas apresentaram uma maior atividade da enzima glutationa peroxidase em relação aos não treinados.

Pudemos observar ainda que estas diferenças entre os grupos foram significativas depois do exercício nas intensidades LV2 e AnM. Estes resultados concordam com Inal *et al.* (2001), que encontraram atividade aumentada da GPx em eritrócitos de atletas após natação em intensidade tanto aeróbia quanto anaeróbia. O resultado de Inal pode ter sido influenciado, pois uniu homens e mulheres, e conforme Kanaley (1991), o hormônio 17 β estradiol aumenta os níveis da enzima GPx nas mulheres. Ao comparar atividades aeróbias com anaeróbias como corredores de longa distância e lutadores, houve diferença nos níveis basais de GPx. Os atletas que treinavam resistência aeróbia mostraram maiores atividades da enzima, sugerindo que este tipo de treinamento aumente a atividade da GPx em eritrócitos. O trabalho de Hellstein *et al.* (1996), também estudando humanos encontrou após um treinamento de 7 semanas de ciclismo uma maior atividade da GPx no músculo vasto lateral. Ramires (2001), após 10 semanas de treinamento com ratos, observou que a atividade miocárdica da enzima GPx estava aumentada. Outros oito trabalhos citados por

Powers (1999), com treinamento em ratos também apresentaram aumento na atividade da GPx.

Já o trabalho de Subudhi *et al.* (2001), que também mediu a GPx em eritrócitos por um método similar ao deste estudo, não encontrou diferença entre antes e depois do exercício com esquiadores alpinos. De forma diferente outros dois trabalhos observaram, em eritrócitos de seres humanos (BALAKRISHNAN *et al.,* 1998), e coração de ratos (BELLÓ-KLEIN *et al.,* 2000) redução nos níveis basais da GPx em treinados comparados a não treinados. Apesar dos trabalhos citados estudarem cobaias animais ou humanos, tecido ou sangue, o resultado em geral é de que a atividade da enzima GPx aumenta após o treinamento.

Nossos resultados nos permitem confirmar a hipótese 5, que propõem que indivíduos não treinados possuem menor atividade antioxidante comparados a treinados, em função da existência de um efeito principal mostrando que o grupo treinado teve maior atividade da GPx. Também confirmamos a hipótese 3, pois não houve mudanças na GPx em baixa intensidade, independente do grupo.

LIMITAÇÕES DO ESTUDO

1. Os indivíduos possuem hábitos alimentares diferentes que não podem ser controlados. O registro alimentar de três dias foi utilizado para estimar o consumo de quilocalorias e de macronutrientes, pois se sabe que a alimentação tem grande influência no perfil antioxidante dos indivíduos (EVANS, 2001). No trabalho de Subudhi *et al*. (2001), os atletas moraram, comeram e treinaram juntos em um acampamento durante o período do estudo. O registro alimentar de três dias também foi utilizado, mas com a diferença que durante as refeições os investigadores observavam a ingesta e estimavam as porções servidas. Infelizmente em nosso estudo tal procedimento não foi viável.

6. CONCLUSÕES

As conclusões referem-se aos efeitos principais, obtidos a partir do modelo estatístico do projeto fatorial, e às análises inter e intragrupos.

Efeitos principais

1- O exercício físico agudo provoca aumento da capacidade antioxidante total

2- Os triatletas apresentaram maior atividade da enzima glutationa peroxidase comparados aos indivíduos não treinados

Análises inter e intragrupos

1 – O exercício físico, no modelo utilizado neste trabalho, não provoca aumento de EO avaliado por quimiluminescência em nenhum grupo, porém provoca diminuição de EO na intensidade AnM no grupo treinado.

2 – O exercício físico agudo provoca aumento da capacidade antioxidante total nas intensidades LV1 e AnM, no grupo não treinado e em AnM no treinado.

3 – O exercício agudo provoca aumento da atividade da SOD no grupo não treinado nas intensidades LV1 e LV2.

4 – O exercício não foi capaz de provocar alteração da atividade da catalase em eritrócitos, tanto em triatletas quanto em indivíduos não treinados.

5 – Os triatletas apresentaram maior atividade da enzima glutationa peroxidase comparados aos indivíduos não treinados nas intensidades LV2 e AnM.

ALTERNATIVAS DE PROSSEGUIMENTO DOS ESTUDOS

Em função da experiência e dos resultados obtidos com a realização deste trabalho, diversas possibilidades de prosseguimento deste estudo podem ser propostas. Podemos sugerir, dessa forma:

1) Avaliação do efeito do exercício com duração maior que 1 hora e/ou extenuante sobre as características estudadas.
2) O estudo do efeito do exercício sobre outros parâmetros de estresse oxidativo, tais como: expressão gênica de enzimas antioxidantes, oxidação de proteínas, oxidação de DNA e outros.
3) O estudo da relação entre o estresse oxidativo e dano muscular induzido pelo exercício através da determinação das enzimas creatinafosfoquinase e lactatodesidrogenase plasmáticas.
4) Estudar o efeito de refeições ricas em nutrientes antioxidantes em indivíduos submetidos a exercício, ou ainda, determinar efeitos de terapias antioxidantes, tão difundidas no meio esportivo, porém ainda não adequadamente estudadas, tais como: suplementação de vitaminas A, C, ou E e cofatores de enzimas do sistema antioxidante (selênio, zinco, etc.).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 American College of Sports Medicine Position Stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.30, n.6, p.975-991, 1998.

2 ALBRIGHT, A.; FRANZ, M.; HORNSBY, G.; KRISKA, A.; MARRERO, D.; ULLRICH, I.; VERITY L. S. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and type 2 diabetes. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.32, n.7 p.1345-1360, 2000.

3 ACSM´s guidelines for exercise testing and prescription. 6 ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 2000.

4 ALESSIO, H. M. Exercise-induced oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.25, n.2, p.218-224, 1993.

5 ALESSIO, H. M.; GOLDFARB, A. H.; CAO, G. Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *Int. J. Sport Nutr.*, v.7, n.1, p.1-9, 1997.

6 AMES, B. N.; CATHCART, R.; SCHWIERS, E.; HOCHSTEIN, P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: A hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v.78, n.11, p.6858-6862, 1981.

7 APPELL, H. -J.; DUARTE, J. A. R.; SOARES, J. M. C. Supplementation of vitamin E may attenuate skeletal muscle immobilization atrophy. *Int. J. Sports Med.*, v.18, n.3, p.157-160, 1997.

8 ASHTON, T.; ROWLANDS, C. C.; JONES, E.; YOUNG, I. S.; JACKSON, S. K.; DAVIES, B.; PETERS, J. R. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v.77, p.498-502, 1998.

9 ASTORINO, T. A. Is the ventilatory threshold coincident with maximal fat oxidation during submaximal exercise in women? *J. Sports Med. Phys. Fitness*, v.40, p.209-216, 2000.

10 ASTRAND, P. O.; RODHAL, K. *Textbook of work physiology*. New York: McGraw-Hill, 1977.

11 ATALAY, M.; LAAKSONEN, D. E.; KHANNA, S.; KALISTE-KORHONEN, E.; HANNINEN, O.; SEN, C. K. Vitamin E regulates changes in tissue antioxidants induced by fish oil and acute exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.32, n.3, p.601-607, 2000.

12 BALAKRISHNAN, S. D.; ANURADHA, C. V. Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell. Biochem. Funct.*, v.16, p.269-275, 1998.

13 BALKE, P. O.; SNIDER, M. T.; BULL, A. P. Evidence for lipid peroxidation during moderate exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.16, p.181, 1984.

14 BEAVER, W. L.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J. Appl. Physiol.*, v.60, p.2020-2027, 1986.

15 BELLÓ-KLEIN, A.; LAGRANHA, C. J.; BOCK, P.; BARP, J.; ARAÚJO, A. S. R.; LLESUY, S.; BELLÓ, A. A.; KHAPER, N.; SINGAL, P. K. Submaximal exercise training in postnatal rats: hemodynamic and oxidative stress changes. *Exp. Clin. Cardiol.*, v.5, n.3, p.149-153, 2000.

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

17 BOVERIS, A.; CHANCE, B. The Mitochondrial Generation of Hydrogen Peroxide. *Biochem. J.,* v.134, p.707-716, 1973.

18 BRADY, P. S.; KU, P. K.; UREY, D. E. Lack of supplementation on the response of equine erytrocyte glutathione system and plasma enzymes to exercise. *J. Anim. Sci.*, v.47, p.492-498, 1978.

19 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas Públicas. Plano de Reorganização da Atenção à Hipertensão Arterial e ao Diabetes Mellitus. *Rev. Saúde Pública*, v.35, n.6, São Paulo, dez., 2001.

20 BROOKS, G. A. Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.17, n.1, p.22-31, 1985.

21 CERIELLO, A. Acute hyperglicaemia and oxidative stress generation. *Diabetic Medicine*, v.14, p.S45-S49, 1997.

22 CHILD, R. B.; WILKINSON, D. M.; FALLOWFIELD J. L.; DONNELLY, A. E. Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.30, n.11, p.1603-1607, 1998.

23 CHUNG, S. -C.; GOLDFARB, A. H.; JAMURTAS, A. Z.; HEDGE, S. S.; LEE J. Effect of exercise during the follicular and luteal phases on indices of oxidative stress in healthy women. *Med. Sci. Sports Med.*, v.31, n.3, p.409-413, 1999.

24 CONCONI, F.; FERRARI, M.; ZIGLIO, P. G.; DROGHETTI, P.; CODECA, L. Determination of the anaerobic threshold by a noninvasive field test in runners. *J. Appl. Physiol.*, v.52, n.4, p.869-873, 1982.

25 CONSENSO Nacional de Ergometria. Departamento de Ergometria e Reabilitação Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol.,*v.65, n.2, p.189-211, 1995.

26 DALSKY, G. P. The role of exercise in the prevention of osteoporosis. *Compreh. Ther.*, v.15, n.9, p.30-37, 1989.

27 DAVIES, K. J. A.; QUINTANILHA, A. T.; BROOKS, G. A.; PACKER, L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Bioch. Bioph. Res. Com.*, v.107, n.4, p.1198-1205, 1982.

28 DE ANGELIS, K. L. D.; OLIVEIRA, A. R.; WERNER, A., BOCK, P.; BELLÓ-KLEIN, A.; FERNANDES, T. G.; BELLÓ, A. A.; IRIGOYEN, M. C. Exercise training in aging. Hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. *Hypertension*, v.30, n.3, parte 2, p.767-771, 1997.

29 DEEV, L. I.; AKHALAIAI, M. I.; ILLARIONOVA, E. A.; KADRIASHOV, I. B. Relation of changes in the content and activity of rat liver microssomal cytochrome P-450 to the intensification of lipid peroxidation under stress. *Biul. Eksper. Biol. Med.*, v.95, p.51-53, 1983.

30 DEL MAESTRO, R. F. An aproach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol. Scand.*, v.492, p.153-168, 1980.

31 DEL MAESTRO, R. F.; BJORK, J.; ARFORS, K. E. Increase in microvascular permeability induced by enzymatically generated free radicals. II. Role of superoxide anion radical, hydrogen peroxide, and hydroxyl radical. *Microvasc. Res.,* v.22, p.255-270, 1981.

32 DENADAI, B. S. Limiar anaeróbio: considerações fisiológicas e metodológicas. *Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde*, v.1, n.2, p.74-88, 1995.

33 DILLARD, C. J.; LITOR, R. E.; SAVIN, W. M.; DUMELIN, E. E.; TAPPEL, A. L. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J. Appl. Physiol.*, v.45, p.927-932, 1978.

34 DIRETRIZES Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, III. *Arq. Bras. Cardiol.,* v.77, p.1-48, 2001. Supl.3.

35 DORMANDY, T. L. Free radical oxidation and antioxidants. *Lancet*, v.1, n.8065, p.647-650, 1978.

36 DUFAUX, B.; HEINE, O.; KOTHE, A.; PRINZ, U. ROST, R. Blood glutathione status following distance running. *Int. J. Sports Med.*, v.18, n.2, p.89-93, 1997.

37 EBBELING, C. B.; CLARKSON, P. M. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med.*, v.7, p.207-234, 1989.

38 EGE, S. Organic chemistry, p.162, DC Heath and Co., Lexington, Mass., 1984.

39 EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*, v.85, supl.2, p.S67-S74, 2001.

40 FERRARI, R.; CECONI, C.; CURELLO, S.; GUARNIERI, C.; CALDARERA, M.; ALBERTINI, A.; VISIOLI, O. Oxygen-mediated myocardial damage during ischaemia and reperfusion: role of the cellular defences against oxygen toxicity. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, v.17, p.937-945, 1985.

41 FISCHER, A. B. Intracelular production of oxygen-derived free radicals. *Proceedings of a Brook Lodge Symposium*, Augusta, Apr. 27-29, p.99-104, 1987.

42 FLOHÉ, L.; GUNZLER, W.A. Assay of Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymology*, v.105, p.114-121, 1984.

43 FORNÉS, N. S.; MARTINS, I. S.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G.; LATORRE, M. R. D. O. Escores de consumo alimentar e níveis lipêmicos em população de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, Fev., v.36, n.1, 2002.

44 FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1997. 307p.

45 GARRETT, Jr., W. E.; KIRKENDALL, D. T. Exercise and Sport Science. Cap.59 Physiology of Triathlon (David S. Rowlands and Brendom Downey).Phyladelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.921-922, 2000.

46 GONZALEZ-FLECHA, B.; LLESUY, S.; BOVERIS, A. Hydrogen initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. *Free Rad. Biol. Med.*, v.10, p.93-100, 1991.

47 GUTTERIDGE, J. M. C.; ROWLEY, D. A.; HALLIWELL, B.; COOPER, D. F.; HEELEY, D. M. Cooper and iron complexes catalytic for oxygen radicals reactions in sweat from human athletes. *Clin. Chim. Acta*, v.1145, p.267-273, 1985.

48 HALLIWELL, B. *Antioxidants: The Basis What They Are and How to Evaluate Them*. In SIES, H. (ed) Antioxidants in diseases: Mecanisms and Therapy. (Advances in Pharmacology, v.38) Califórnia: Academic Press, 1997.

49 HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. *Free Rad. Biol. Med.,* 3.ed., Oxford: *Oxford*, 1999 .

50 HEATH, G. W.; HAGBERG, J. M.; EHSANI, A. A.; HOLLOSZY, J. O. A physiological comparison of young and older endurance athletes. *J.Appl. Physiol.*, v.51, n.3, p.634-640, 1981.

51 HELLSTEIN, Y. APPLE, F.; SJODIN, B. Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*,v.81, p.1484-1487, 1996.

52 HEUNKS, L. M. A.; VIÑA, J.; VAN HERWAARDEN, C. L. A.; FOLGERING, H. T. M.; GIMENO, A.; DEKHUIJZEN, P. N. R. Xanthine oxidase is involved in exercise-

induced oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Physiol.*, v.277 (*Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 46), p.R1697-R1704, 1999.

53 HOCHSTEIN, P. ; JAIN, S. K. Association of lipid peroxidation and polymerization of membrane proteins with erythrocyte aging. *Fed. Proc.*, v.40, n.2, p.183-188, 1981.

54 HOUTKOOPER, L. Food selection for endurance sports. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.24, n.9, p.S349-S359, 1992.

55 HSI, W. –L.; LAN, C.; LAI, J. –S. Normal standards for cardiopulmonary responses to exercise using a cycle ergometer test. *J. Formos Med. Assoc.*, v.97, p.315-322, 1998.

56 HUGHES, E. F.; TURNER, S. C.; BROOKS, G. A. Effects of glycogen depletion and pedaling on "anaerobic threshold". *J. Appl. Phys. Resp. Env. Exerc. Phys.*, v.52, p.1598-1607, 1982.

57 INAL, M.; AKYÜZ, F.; TURGUT, A.; GETSFRID, W. M. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.33, n.4, p.564-567, 2001.

58 ITOH, H.; OHKUWA, T.; YAMAMOTO, T.; SATO, Y.; MIYAMURA, M.; NAOI, M. Effects of endurance physical training on hydroxyl radical generation in rat tissues. *Life Sciences*, v.63, n.21, p.1921-1929, 1998.

59 JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. *Brit. J. of Nutr.*, v.40, p.497-504, 1978.

60 JACKSON, M. J.; EDWARDS, R. H. T.; SYMONS, M. C. R. Eletron spin resonance studies of intact skeletal muscle. *Bioch. Bioph. Acta*, v.847, p.185-190, 1985.

61 JACOBS, K. A.; SHERMAN, W. M. The efficacy of carbohydrate supplementation and chronic high-carbohydrate diets for improving endurance performance. *Int. J. Sports Nutr.*, v.9, n.1, p.92-115, 1999.

62 JENKINS, R.R.; LOPRESTO, C. Influence of H_2O_2 on glycogen repletion in rat liver and skeletal muscle. *In Benzi (Ed.) Advances in myochemistry* 1, p.364, J. Libbey & Co., London, 1987.

63 JENKINS, R. R. Free radical chemistry relationship to exercise. *Sports Med.*, v.5, p.156-170, 1988.

64 JENKINS, R.R. Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.72, p.670S-674S, 2000. Suppl.

65 JI, L. L.; FU, R. Responses of glutathione system and anti-oxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *J. Appl. Physiol.*, v.72, n.2, p.549-554, 1992.

66 KANALEY, J. A.; JI, L. L. Antioxidant enzyme activity during prolonged exercise in amenorrheic and eumenorrheic athletes. *Metab. Clin. Exper.*, v.40, p.88-92, 1991.

67 KANTER, M. M.; LESMES, G. R.; NEGUIN, N. D.; KAMINSKY, L. A.; SAEGER, J. M. Serum lipids levels and lipid peroxidation in ultramarathon runners. *Annu. Sports Med.*, v.3, p.39-41, 1986.

68 KARMAZYN, M.; LEUNG, C. K. H.; DHALLA, N. S. Prostaglandin actions and interactions on isolated perfused rat hearts. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v.57, p.1275-1282, 1979.

69 KIRWAN, J. P.; O'GORMAN, D.; EVANS, W. J. A moderate glycemic meal before endurance exercise can enhance performance. *J. Appl. Physiol.*, v.84, n.1, p.53-59, 1998.

70 KLISSOURAS, V. Heretability of adaptative variation. *J. Appl. Physiol.*, v.31, p.338-344, 1971.

71 KONDO, H. *et al*. Role of iron in oxidative stress in skeletal muscle atrophied by immobilization. *Pflugers Arch.*, v.421, 295. 1992.

72 LEAF, D. A.; KLEINMAN, M. T.; HAMILTON, M.; BARSTOW, T. J. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.29, n.8, p.1036-1039, 1997.

73 LEEUWENBURGH, C.; HOLLANDER, J.; LEICHTWEISS, S.; GRIFITHS, M.; GORE, M.; JI, L. L. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am. J. Physiol.*, v.272 (Regulatory Integrative Comp. Physiol 41), p.R363 – R369, 1997.

74 LEMON, P. W. R.; PROCTOR, D. N. Protein intake and athletic performance. *Sposts Med.*, v.12, n.5, p.313-325, 1991.

75 LISSI, E.; SALIM-HANNA M.; PASCUAL C.; CASTILLO M. D. Evaluation of total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. *Free Rad. Biol. Med.*, v.18, p.153-158, 1995.

76 LLESUY, S. F. MILEI, J.; FLECHA, B. S. G.; BOVERIS, A. Myocardial damage induced by doxorubicins: hydroperoxide-initiated chemiluminescence and morphology. *Free Rad. Biol. Med.*, v.8, p.259-264, 1990.

77 LOVLIM, R.; COTTLE, W.; PYKE, I.; KAVANAGH, M.; BELCASTRO, A. N. Are indices of free radical damage related to exercise intensity? *Eur. J. Appl. Physiol.*, v.56, p.312-316, 1987.

78 LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDAHLL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, v.193, p.265-275, 1951.

79 LUCÍA, A.; HOYOS, J.; PÉREZ, M.; CHICHARRO, J. L. Heart rate and performance parameters in elite cyclists: a longitudinal study. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.32, n.10, p.1777-1782, 2000.

80 MACHA, M.; SHLAFER, M.; KLUGER, M. J. Human neutrophil hydrogen peroxide generation following physical exercise. *J. Sports Med. Phys. Fitness.*, v.30, p.412-421, 1990.

81 MARGARITIS, I.; TESSIER, F.; M. -J. RICHARD; MARCONNET, P. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int. J. Sports Med*., v.18, n.3, p.186-190, 1997.

82 MARKLUND, S. In: Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. Boca Raton. CRC Press, p.243-247, 1985.

83 MARRETT, L. D.; THEIS, B.; ASHBURY, F. D. Workshop report: physical activity and cancer prevention. *Chronic Dis. Can.*, v.21, n.4, p.143-149, 2000.

84 MARZATICO, F.; PANSARASA, O.; BERTORELLI, L.; SOMENZINI, L.; DELLA VALLE, G. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following

long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness.*, v.37, n.4, p.235-239, 1997.

85 MASTALOUDIS, A.; LEONARD, S. W.; TRABER, M. G. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Rad. Biol. Med.,* v.31, n.7, p.911-922, 2001.

86 MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P. L. Bioquímica do Exercício e do Treinamento. Manole, São Paulo, 1 ed., 2000.

87 McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. Exercise physiology: energy, nutrition, and human performance. Williams & Wilkins, USA, 4 ed., 1996.

88 McCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymatic function for erytrocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, v.244, p.6049-6055, 1969.

89 McDOUGALL, J. D.; WENGER, H. A.; GREEN, H. J. Physiological testing of the high-performance athlete. 2ed. Human Kinetics. Champaign, Illinois, 1991, cap.4 Testing Aerobic Power – James S. Thoden, p.108.

90 McLELLAN, T. M.; CHEUNG, K. S. Y. A comparative evaluation of the individual anaerobic threshold and the critical power. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.24, n.5, p.543-550, 1992.

91 MENEGUINI, R. A Toxicidade do Oxigênio. *Ciência Hoje*, v.5, n.28, 1987.

92 MILLS, P. C.; SMITH, N. C.; CASAS, I.; HARRIS, P.; HARRIS, R. C.; MARLIN, D. J. Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v.74, n.1-2, p.60-66, 1996.

93 MONCADA, S., HIGGS, A. Nitric oxide: role in human disease. *Encyclopedia of Life Sciences*, 2001. Disponível em www.els.net em 20 dez 2001.

94 MONTGOMERY, D. C. Design and analysis of experiments. John Wiley & Sons, Singapore, 3 ed., 1991.

95 MULLER, P.; WALLIN, H.; KNUDSEN, L. E. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chem. Biol. Interact.*, v.102, n.1, p.17-36, 1996.

96 NIESS, A. M.; HARTMANN, A.; GRUNERT-FUCHS, M.; POCH, B.; SPEIT, G. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int. J. Sports Med.*, v.17, n.6, p.397-403, 1996.

97 PACKER, L. Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *J. Sports Sci.,* v.15, n.3, p.353-363, 1997.

98 PAL YU, B. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*. V.74, n.1, p.139-162, 1994.

99 PINHEIRO, A. B. V.; LACERDA, E. M. A.; BENZECRY, E. H.; GOMES, M. C. S.; COSTA, V. M. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. s.l.:s.n., 2.ed. 1994. 63p.

100PIRISI, M.; FEDERICO, E.; BORTOLOTTI, N.; FABRIS, C.; FALLETI, E.; SOARDO, G.; GONANO, F.; BARTOLI, E. Effect of eating on plasma radical-trapping antioxidant activity (TRAP) in patients with cirrhosis. *Clinical Biochemistry,* v.32, n.6, p.447-453, 1999.

101 POWERS, S. K.; JI, L. L.; LEEUWENBURGH, C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.31, n.7, p.987-997, 1999.

102 RABBO, M. P. S. Estresse oxidativo cardíaco e hepático em distintas freqüências de exercício físico em rato. Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

103 RACKNAGEL, R. O. ; GOSHAL, A. K. New data on the question of lipoperoxidation of lipids. *Exp. Mol. Pathol.*, v.5, p.108-117, 1966.

104 RADÁK, Z.; KANEKO, T.; TAHARA, S.; NAKAMOTO, H.; OHNO, H.; SASVÁRI, M.; NYAKAS, C.; GOTO, S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for bebeficial outcomes. *Free Rad. Biol. Med.*, v.27, n.1 e 2, p.69-74, 1999.

105 RAMIRES, P. R.; JI, L. L. Glutathione supplementation and training increases myocardial resistance to ischemia-reperfusion in vivo. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, v.281, n.2, p. H679-H688, 2001.

106 RDA. Food and Nutrition Board. Recommended Dietary Allowances, National Academy Press, Washington, DC, 10 ed., 1989.

107 RIBEIRO, J. P.; HUGHES, V.; FIELDING, R. A.; HOLDEN, W.; EVANS, W.; KNUTTGEN, H. G. Metabolic and ventilatory responses to steady state exercise relative to lactate thresholds. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v.55, p.215-221, 1986.

108 RIBEIRO, J. P. Limiares metabólicos e ventilatórios durante exercício. *Arq. Bras. Cardiol.*, v.64, n.2, p.171-181, 1995.

109 RIBEIRO, J. L. D.; TEN CATEN, C. Projeto de experimentos. Série monográfica qualidade. Escola de Engenharia, Porto Alegre, RS, 2000.

110 ROBERGS, R. A.; ROBERTS, S. O. Exercise physiology: exercise, performance, and clinical applications. Mosby, USA, 1997.

111 ROKITZKI. L.; LOGEMANN, E.; SAGREDOS, A. N.; MURPHY, M.; WETZEL-ROTH, W.; KEUL, J. Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol. Scand*., v.151, p.149-158, 1994.

112 RUSSEL, G.A. Deuterium – isotopo effects in the autoxidation of aralkyl hydrocarbons mecanism of the interaction of peroxy radicals, in: *J. Am. Chem. Soc*., v.79, p.3871-3880, 1957.

113 SCHNEIDER, D. A.; LACROIX, K. A.; ATKINSON, G. R.; TROPED, P. J.; POLLACK, J. Ventilatory threshold and maximal oxygen uptake during cycling and running in triathletes. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.22, n.2, p.257-264, 1990.

114 SCHRÖDER, H.; NAVARRO, E.; TRAMULLAS, A.; MORA, J.; GALIANO, D. Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of a three compound antioxidant supplement. *Int. J. Sports Med.*, v.21, p.146-150, 2000.

115 SELAMOGLU, S.; TURGAY, F.; KAYATEKIN, B. M.; GÜNENC, S.; YSLEGEN, C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. *Acta Physiol. Hung.*, v.87, n.3, p.267-273, 2000.

116 SEN, C. K.; MUSTAFA, A.; HANNINEN, O. Exercise-induced oxidative stress: glutathione supplementation and deficiency. *J. Appl. Physiol.*, v.77, n.5, p.2177-2187, 1994.

117 SEN, C. K. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. *J. Nutr. Biochem.,*v.8, p.660-672, 1997.

118 SEN, C. K. Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Mol. Cell. Biochem.*, v.196, p.31-42, 1999.

119 SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. *Angew. Chem. Int. Ed. Ingl.,* v.25, p.1058-1071, 1986.

120 SIES, H.; MURPHY, M.E. Role of tocopherols in the protection of biological against oxidative damage. *J. Photochem. Photobiol. B. Biol*., v.8, p.211-224, 1991.

121 SIMON, J.; YOUNG, J. L.; BLOOD, D. K.; SEGAL, K. R.; CASE, R. B.; GUTIN, B. Plasma lactate and ventilation thresholds in trained and untrained cyclists. *J. Appl. Physiol.*, v.60, n.3, p.777-781, 1986.

122 SOUTHORN, P. A.; POWIS, G. Free radicals in medicine I. Nature and biologic reactions. *Mayo Clin. Proc.* 63: 381-389, 1988a.

123 SOUTHORN, P. A.; POWIS, G. Free radicals in medicine II. Involvement in human disease. *Mayo Clin. Proc.,* v.63, p.390-408, 1988b.

124 SPARKS, M. J.; SELIG, S. S.; FEBBRAIO, M. A. Pre-exercise carbohydrate ingestion: effect of the glycemic index on endurance exercise performance. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.30, n.6, p.844-849, 1998.

125 SUBUDHI, A. W.; DAVIS, S. L.; KIPP, R. W.; ASKEW, E. W. Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *Int. J. Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v.11, p.32-41, 2001.

126 TESSIER, F.; MARGARITIS, I.; RICHARD, M. -J.; MOYNOT, C.; MARCONNET, P. Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Med. Sci. Sports Exerc.,* v.27, n.3, p.390-396, 1995.

127 THODEN, J. S. Testing aerobic power, cap.4, p.131, In: Physiological testing of the high-performance athlete, 2 ed. Human Kinetics, 1991.

128 THOMAS, C.E. *Approaches and Rationale for the Design of Synthetic Antioxidants as Therapeutic Agents*. In PACKER, L. Handbook of Synthetic Antioxidants. New York: Marcel Dekker Inc., 1997.

129 VASANKARI, T. J.; KUJALA, U. M.; RUSKO, H. SARNA, S.; AHOTUPA, M. The effect of endurance exercise at moderate altitude on serum lipid peroxidation and antioxidative functions in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v.75, p.396-399, 1997.

130 VASANKARI, T.; KUJALA, U.; SARNA, S.; AHOTUPA, M. Effects of ascorbic acid and carbohydrate ingestion on exercise induced oxidative stress. *J. Sports Med. Phys. Fitness.,* v.38, n.4, p.281-285, 1998.

131 VENDITTI, P.; S. DI MEO. Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. *Int. J. Sports Med.,* v.18, p.497-502,1997.

132 VIÑA, J.; GOMEZ-CABRERA, M. C.; LLORET, A.; MARQUEZ, R.; MIÑANA, J. B.; PALLARDÓ, F. V.; SASTRE, J. Free radical in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life*, v.50, n.4-5, p.271-277, 2000.

133 WALKER, A. R. P. Public nutrition: who is listening, responding and acting? *Nutrition Research,* v.17, n.5, p.759-773, 1997.

134 WASSERMAN, K.; HANSEN, J. E.; SUE, D. Y.; WHIPP, B. J.; CASABURI, R. Principles of exercise testing and interpretation. 2 ed. Lea & Febiger, 1994.

135 WASSERMAN, K.; STRINGER, W. W.; CASABURI, R.; KOIKE, A.; COOPER, C. B. Determination of the anaerobic threshold by gas exchange: biochemical considerations, methodology and physiological effects. *Z. Kardiol*., v.83, p.1-12, 1994. Suppl.3.

136 WEINECK, J. Treinamento Ideal. 9 ed. São Paulo: Manole, 1999.

137 WHITE, A.; ESTRADA, M.; WALKER, K.; WISNIA, P.; FILGUEIRA, G.; VALDÉS, F.; ARANEDA, O.; BEHN, C.; MARTÍNEZ, R. Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horses. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.128, parte A, p.99-104, 2001.

138 WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. Training for sport and activity - the physiological basis of the conditioning process. 3ed., Human Kinetics, 1993.

139 WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. Fisiologia do esporte e do exercício. 2 ed, Manole, SP, Brasil, 2001.

ANEXOS

ANEXO 1 – VALORES PERCENTIS PARA POTÊNCIA AERÓBIA MÁXIMA

	Idade				
Percentil	20-29	30-39	40-49	50-59	60+
Homens					
90	51,4	50,4	48,2	45,3	42,5
80	48,2	46,8	44,1	41	38,1
70	46,8	44,6	41,8	38,5	35,3
60	44,2	42,4	39,9	36,7	33,6
50	42,5	41,0	38,1	35,2	31,8
40	41,0	38,9	36,7	33,8	30,2
30	39,5	37,4	35,1	32,3	28,7
20	37,1	35,4	33,0	30,2	26,5
10	34,5	32,5	30,9	28,0	23,1
Mulheres					
90	44,2	41,0	39,5	35,2	35,2
80	41,0	38,6	36,3	32,3	31,2
70	38,1	36,7	33,8	30,9	29,4
60	36,7	34,6	32,3	29,4	27,2
50	35,2	33,8	30,9	28,2	25,8
40	33,8	32,3	29,5	26,9	24,5
30	32,3	30,5	28,3	25,5	23,8
20	30,6	28,7	26,5	24,3	22,8
10	28,4	26,5	25,1	22,3	20,8

Dados fornecidos pelo Instituto de Pesquisa Aeróbica, Dallas, TX (1994), adaptados do ACSM´s *Guidelines for Exercise Testing and Prescription*, p. 77, 6 ed., 2000. O ranking da potência aeróbia máxima ($mL.kg^{-1}.min^{-1}$) pode ser interpretado da seguinte maneira: percentil 90: bem acima da média; percentil 70: acima da média; percentil 50: média; percentil 30: abaixo da média; percentil 10: bem abaixo da média.

ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO

Você está sendo convidado a participar de um estudo que visa determinar a correlação entre estresse oxidativo, consumo de oxigênio, limiares ventilatórios e sistema antioxidante. Sua presença será necessária durante 4 dias no Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da UFRGS, onde serão realizados os testes.

Serão realizados um teste de carga máxima em esteira rolante e, nos dias subseqüentes, a repetição de uma determinada carga desenvolvida no teste inicial por um período de 40 minutos. Durante cada um dos testes será realizado coleta de gases em equipamento de avaliação cardiorrespiratória para determinação de consumo de oxigênio, produção de CO_2, quociente respiratório e limiares ventilatórios. Antes e após os testes serão feitas coletas de sangue para análise do estresse oxidativo e da capacidade antioxidante.

Você será acompanhado por uma equipe de pesquisadores experientes, dessa forma, o risco de complicação é mínimo.

Você também não deverá ser portador de qualquer tipo de doença, nem estar fazendo uso de qualquer medicação.

A participação neste estudo é absolutamente voluntária, sem, portanto, qualquer tipo de gratificação, tendo direito apenas aos seus resultados no final do teste.

Todas as informações serão confidenciais, tendo acesso a elas somente os profissionais envolvidos no estudo e o voluntário analisado.

Você é livre para realizar perguntas antes, durante ou após o estudo, estando livre para desistir do mesmo em qualquer momento, sem prejuízo algum.

DECLARAÇÃO

Declaro estar ciente dos benefícios, riscos e conseqüências deste estudo. Não receberei qualquer pagamento por minha participação, além do acesso aos meus resultados. Aceito, dessa forma, participar desta investigação.

_____

Nome:_____

Endereço:_____

Telefone:_____

Porto Alegre, _____de_____de 200__.

ANEXO 3 - PAR-Q: QUESTIONÁRIO SOBRE PRONTIDÃO PARA ATIVIDADE FÍSICA

Nome do participante:_____ Data:_____

O PAR-Q é designado para ajudar você a ajudar a si mesmo. Muitos benefícios de saúde estão associados ao exercício regular, e o preenchimento do PAR-Q é um primeiro passo sensível a ser dado se você está planejando aumentar a quantidade de atividade física em sua vida.

Para muitas pessoas, a atividade física não deve representar qualquer problema ou risco. O PAR-Q tem sido designado para identificar o pequeno número de adultos para quem a atividade física pode ser imprópria ou para aqueles que devem receber orientação médica sobre o tipo de atividade mais adequada para o seu caso.

O bom senso é o seu melhor guia para responder a estas perguntas. Leia-as cuidadosamente e marque (√) no □ SIM ou □ NÃO ao lado da questão, dependendo se ela se aplica a você.

SIM	NÃO		
( )	( )	1.	Seu médico alguma vez já lhe disse que você tem problema cardíaco?
( )	( )	2.	Você sente freqüentemente dores no coração ou no peito?
( )	( )	3.	Você muitas vezes se sente fraco ou tem fortes episódios de tontura?
( )	( )	4.	Algum médico já lhe disse que sua pressão arterial estava muita alta?
( )	( )	5.	Seu médico alguma vez já lhe disse que você tem um problema ósseo ou articular tal como artrite que tenha sido agravado por exercício ou possa piorar com exercício?
( )	( )	6.	Há uma boa razão física não mencionada aqui pela qual você não deva seguir um programa de atividade mesmo que quisesse?
( )	( )	7.	Você tem mais de 65 anos e não está acostumado com exercício vigoroso?

ANEXO 4 - REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS

O objetivo deste registro é conhecer os seus hábitos alimentares. Para que eles estejam o mais próximo possível da sua realidade, é importante que você anote TUDO o que comer e beber durante estes 3 dias. Isto quer dizer o que comeres na hora das refeições e fora delas também (as conhecidas "beliscadas"). Sempre que souber procure anotar as marcas dos fabricantes (por exemplo, requeijão da *lacesa*, pão integral da *seven boys*, etc.), indicar quando o alimento for *light* ou *diet*. Procure anotar com detalhes as quantidades (em medidas caseiras como colheres de sopa/chá, copo, caneca, etc.) e qualidades (se comer fruta diga qual foi: banana, maçã, etc.). Conforme exemplo abaixo:

DESJEJUM – 7h
1 copo (de requeijão) de leite desnatado
1 colher de sopa cheia de nescau
1 banana caturra
1 pão francês de 50g
1 colher de sopa rasa - margarina becel
1 colher de sopa cheia de mel
1 fatia de queijo lanche fatiado

COLAÇÃO – 10h
1 barra de cereal trio de morango com chocolate

ALMOÇO – 12:30
1 prato fundo de macarrão com 4 colheres de sopa cheias de molho de tomate pomarola, mais 1 colher de sopa cheia de queijo parmesão ralado.
1 coxa de frango sem pele mais 1 sobrecoxa sem pele
2 rodelas finas de beterraba cozida e 2 folhas médias de alface sem tempero
2 copos (de requeijão) de suco de uva *izzi*
1 picolé chicabom de sobremesa

LANCHE – 18h
1 banana média e 3 bolachas de água e sal

MERENDA – não comi nada

JANTA – 22h
½ pizza sadia sabor calabresa
2 copos de coca-cola
3 bombons sonho de valsa

CEIA – não comi nada

	1º dia	2º dia	3º dia
DESJEJUM ---------h			
COLAÇÃO ---------h			
ALMOÇO ---------h			
LANCHE --------h			
MERENDA ---------h			
JANTAR ---------h			
CEIA ----------h			

ANEXO 5 – REQUERIMENTO ENERGÉTICO

Tabela 40 -Requisição energética aproximada em METs para caminhada sem e com inclinação

Km.h^{-1}	**2,7**	**3,2**	**4**	**4,8**	**5,5**	**6**
% inclinação						
0,0	2,3	2,5	2,9	3,3	3,6	3,9
2,5	2,9	3,2	3,8	4,3	4,8	5,2
5,0	3,5	3,9	4,6	5,4	5,9	6,5
7,5	4,1	4,6	5,5	6,4	7,1	7,8
10,0	4,6	5,3	6,3	7,4	8,3	9,1
12,5	5,2	6,0	7,2	8,5	9,5	10,4
15,0	5,8	6,6	8,1	9,5	10,6	11,7
17,5	6,4	7,3	8,9	10,5	11,8	12,9
20,0	7,0	8,0	9,8	11,6	13,0	14,2
22,5	7,6	8,7	10,6	12,6	14,2	15,5
25,0	8,2	9,4	11,5	13,6	15,3	16,8

Adaptado de ACSM guidelines for exercise testing and prescription (2000) páginas 307 e 308.

Tabela 41 - Requisição energética aproximada em METs para corrida sem e com inclinação

Km.h^{-1}	**8**	**9,7**	**11,3**	**12,1**	**12,9**	**14,5**	**16,1**
% Inclinação							
0,0	8,6	10,2	11,7	12,5	13,3	14,8	16,3
2,5	9,5	11,2	12,9	13,8	14,7	16,3	18,0
5,0	10,3	12,3	14,1	15,1	16,1	17,9	19,7
7,5	11,2	13,3	15,3	16,4	17,4	19,4	
10,0	12,0	14,3	16,5	17,7	18,8		
12,5	12,9	15,4	17,7	19,0			
15,0	13,8	16,4	18,9				

Adaptado de ACSM guidelines for exercise testing and prescription (2000) páginas 307 e 308.

ANEXO 6 – COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA PROPESQ/UFRGS

ANEXO 7 – ORDEM DE REALIZAÇÃO DOS TESTES

Os números 1, 2 e 3 da ordem significam respectivamente as intensidades LV1, LV2 e AnM. Além disso, temos para cada teste os valores de $\dot{V}O_2$ alvo e alcançado ($mL.Kg^{-1}.min^{-1}$), a freqüência cardíaca média (bpm), o tempo médio de duração do teste (min), a velocidade média do teste ($Km.h^{-1}$) e o tempo de estabilização inicial no consumo de oxigênio desejado (min).

Sujeitos	Ordem	$\dot{V}O_2$ Alvo	$\dot{V}O_2$ Alcançado	FC	tempo	Velocidade	Estabilização
1	2	32,9	31,4	155	40	9,9	10
1	1	27	28,1	142,5	40	8,1	10
1	3	41,2	41,1		13	12,8	19
2	3	39,1	38,2	177	32,4	12,4	12
2	2	32	31,9	148	40	9,7	10
2	1	22,5	20,6	118	40	6,9	13
3	3	37,1	36,7		26	11,7	13
3	1	18	18,2	127	40	6,5	12
3	2	31,2	32,7	169	40	10,4	10
4	1	33,3	33,1	124	40	9,8	12
4	2	46	45,1	152	40	13,8	10
4	3	54,2	54,2	173	15,1	16,6	7
5	3	44	43	172	36	12	11
5	2	39,1	38	152	40	11	10
5	1	29,7	29,2	153,5	40	8,1	10
6	1	20,7	21,8	138	40	6,5	14
6	2	36,2	34,6	175	40	10,1	10
6	3	43	43,3	185	12	12,7	6
7	3	36,8	36,2	183	32,2	10,7	13
7	1	21,6	20,7	166	40	7,8	12
7	2	31,3	31,5	184,5	40	9	10
8	2	23,9	25	161	40	7,7	11
8	3	30,9	30,4		40	10,5	11
8	1	9,9	9,3	165	40	4	5
9	3	47,6	45,1	178	16,8	15,5	11
9	2	38,1	37,2		40	12,2	16
9	1	20,9	21	106	40	6,6	8
11	1	25,2	23,8	145,5	40	8	12
11	2	38,3	37,2		40	12,5	10
11	3	49,8	49,8		10	16,8	10
12	3	39,6	41,1		32,3	11,6	9

12	1	14	13,4		40	4,9	8
12	2	32	32,6	159	40	10,1	11
13	1	30,6	30,4	147	40	10	9
13	3	48,9	48,1	160	21,4	15,6	8
13	2	36,9	36,9	147,5	40	11,5	10
14	1	23,9	25,1	123	40	7,5	9
14	2	44,6	44,3	158	40	13,9	9
14	3	52,7	52,6	178	14	15,6	9
15	3	58,1	57,1	195	15	17,8	8
15	2	54,7	50,4		40	13,9	10
15	1	43	39,3	153	40	11,3	8
16	3	49,2	49,7	174	17,2	16,6	12
16	1	33,3	33,8		40	11,2	10
16	2	41,4	41,3		40	12,2	11
17	2	43,6	43,5	169	40	13,5	13
17	1	37	36	155	40	11,4	9
17	3	52,5					
18	3	44,4	45,2	188	15	12,4	12
18	1	33,3	33,6	150	40	9,2	8
18	2	38,8	38,3		40	11,9	12

Obs.: Os valores em branco não foram coletados por problemas nos equipamentos.

ANEXO 8 – RESULTADOS DO SPSS DOS EFEITOS PRINCIPAIS

Univariate Analysis of Variance

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: TRAP

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	116640,8[a]	11	10603,712	1,249	,268
Intercept	1,2E+07	1	1,2E+07	1468,598	,000
GRUPO	6369,944	1	6369,944	,750	,389
INTENSID	37153,258	2	18576,629	2,188	,118
TEMPO	36180,173	1	36180,173	4,262	,042
GRUPO * INTENSID	13259,803	2	6629,901	,781	,461
GRUPO * TEMPO	3586,183	1	3586,183	,422	,517
INTENSID * TEMPO	16676,977	2	8338,489	,982	,379
GRUPO * INTENSID * TEMPO	2434,938	2	1217,469	,143	,867
Error	747040,2	88	8489,093		
Total	1,3E+07	100			
Corrected Total	863681,0	99			

a. R Squared = ,135 (Adjusted R Squared = ,027)

Univariate Analysis of Variance

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: GPX

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2287,873[a]	11	207,988	1,268	,256
Intercept	35406,994	1	35406,994	215,869	,000
GRUPO	1217,041	1	1217,041	7,420	,008
INTENSID	565,155	2	282,578	1,723	,185
TEMPO	24,471	1	24,471	,149	,700
GRUPO * INTENSID	41,684	2	20,842	,127	,881
GRUPO * TEMPO	3,032	1	3,032	,018	,892
INTENSID * TEMPO	93,653	2	46,827	,285	,752
GRUPO * INTENSID * TEMPO	278,136	2	139,068	,848	,432
Error	14433,844	88	164,021		
Total	51527,843	100			
Corrected Total	16721,717	99			

a. R Squared = ,137 (Adjusted R Squared = ,029)