

---

**ARTIGO ORIGINAL**

---

**Efeito agudo do exercício físico intenso no balanço oxidante e redutor no sangue de indivíduos ativos*****Acute effect of intense exercise on oxidative and reducing blood response in trained men***

Albená Nunes da Silva\*, Clara Araujo Veloso\*, Rodrigo Salles Amaral\*, Caroline Maria de Oliveira Volpe\*, José Augusto Nogueira Machado\*, Danusa Dias Soares\*\*

*\*Instituto de Ensino e Pesquisa (IEP), Hospital Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte/MG, \*\*Laboratório de Fisiologia do exercício da Escola de Educação Física da Universidade Federal de Minas Gerais (EEEFTO/UFMG), Belo Horizonte/MG*

**Resumo**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do exercício físico, representado pelo teste de Cooper, na produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), na formação de AGEs, na ativação de proteína Kinase C (PKC) e na capacidade antioxidante do plasma de indivíduos treinados. ROS foi quantificado utilizando quimioluminescência dependente de luminol. A capacidade antioxidante total do plasma foi avaliada através da redução direta de sal tetrazólico (MTT). Para análise da produção de AGEs, as concentrações de malonaldeído (MDA) plasmático foram medidas por kit de ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a produção de ROS em resposta à ativação por PKC foi medida usando o ativador PDB. As análises estatísticas da produção de ROS foram feitas em função logarítmica, usando-se o teste de Fisher. Para os demais dados, foi

utilizado o teste "t" de Student, sendo  $p < 0,05$  considerado estatisticamente significativo. O exercício físico foi capaz de aumentar em 39% a produção de ROS nos leucócitos coletados ( $p < 0,05$ ). Entretanto, este aumento não resultou em peroxidação lipídica ( $p > 0,05$ ). A capacidade antioxidante do plasma diminuiu após o teste de Cooper ( $p < 0,05$ ). Houve ainda grande alteração na sensibilidade da via DAG-PKC (399%) em resposta à atividade física, quando estimulada com éster de forbol (PDB). Os resultados sugerem que o teste de Cooper induziu um aumento em respostas de oxidação na ausência e na presença de PDB e diminuição da resposta redutora para compensar este aumento e afastar a possibilidade de estresse oxidativo.

**Palavras-chave:** espécies reativas de oxigênio, estresse oxidativo, exercício físico.

Recebido em 27 de novembro de 2012; aceito em 4 de fevereiro de 2013.

**Endereço para correspondência:** Albená Nunes da Silva, Rua Major Lopes 738/601, 30330-050 Belo Horizonte MG, E-mail: albenanunes@hotmail.com

---

## Abstract

The present study was designed to determine the effects of exercise (Cooper test) on Reactive Oxygen Species (ROS) production, PKC activation, AGEs formation, and antioxidant capacity of plasma in healthy well trained male volunteers. ROS were quantified by luminol-dependent chemiluminescence. Total plasma antioxidant status was measured in a MTT dye reduction assay. For the analysis of the production of AGEs, plasma malondialdehyde (MDA) concentration was measured by TBARS Assay Kit and ROS production with PKC activation was measured using a PDB (phorbol ester) as activator. Statistical analyses were made with Student's t test and F test. Cooper test increased (39.0%) the ROS generation in leukocytes from well-trained athletes. Similar experiments were

performed *in vitro* with leukocyte collected before and after intense exercise under stimulation without or with phorbol ester (PDB), respectively. ROS production increased in leukocytes after exercise ( $p < 0.05$ ). Lipid peroxidation (MDA) was not altered when the quantification performed before and after exercise were compared ( $p > 0.05$ ). In contrast, the total plasma antioxidant status was significantly decreased in plasma collected after exercise. Our results suggest that physical exercise induces an increase in the oxidizing metabolic response in the presence or in the absence of PDB and a significant decrease in the plasma reducing response to compensate the oxidizing status and to avoid a typical oxidative stress.

**Key-words:** reactive oxygen species, oxidative stress, exercise.

## Introdução

O exercício físico representa aumento na utilização de substratos pelos músculos em atividade devido ao aumento na demanda de energia e, conseqüentemente, na utilização do oxigênio para produzi-la através da via oxidativa [1].

Esse aumento do consumo de oxigênio ( $O_2$ ), assim como a ativação de vias metabólicas específicas durante ou após o exercício, resultam na formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) [2]. Essas substâncias, também chamadas de radicais livres, são produzidas naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos que são altamente reativos e com tempo de vida fugaz na ordem de milésimos de segundos [2].

Radical livre é definido como qualquer átomo, molécula ou fragmento de molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados em suas camadas de valência [3]. Essas moléculas têm sua produção aumentada por exercícios de alta intensidade e foram relacionadas, a partir da década de 80, a diversas doenças, como enfisema pulmonar, doenças inflamatórias, aterosclerose, câncer, e ao envelhecimento [4]. Para sobreviver, os seres aeróbios desenvolveram um mecanismo endógeno para minimizar os danos produzidos pelos radicais livres: o sistema de defesa antioxidante [2].

O desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), ou seja, os radicais livres, e a remoção destes compostos pelo sistema de defesa antioxidante leva o organismo a uma situação conhecida como estresse oxidativo [3]. O estresse oxidativo é uma condição celular ou fisiológica de elevada concentração de ROS que causa danos moleculares às estruturas celulares, com conseqüente alteração funcional e prejuízo das funções vitais [5]. Além disso, pode gerar danos às proteínas e ao DNA, provocando alterações na função celular e, portanto, tecidual [2].

Esses danos acontecem em diversos órgãos e tecidos, como o muscular, hepático, adiposo, vascular e cerebral; e um dos principais mecanismos de lesão é a peroxidação lipídica, ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular [2]. Todavia, o efeito deletério do estresse oxidativo varia consideravelmente de um ser vivo para o outro, de acordo com a idade, o estado fisiológico e a dieta [6]. Há, na literatura científica, evidências de correlação entre exercícios de alta intensidade e excesso na produção de radicais livres [7], e os submáximos resultam em significantes mudanças na susceptibilidade de hemácias à oxidação e ao estresse osmótico [8]. Além disso, quando realizados até a fadiga, exercícios físicos levam ao aumento da utilização da via oxidativa de produção de energia, e con-

sequentemente, da produção de radicais livres, causando um perfil agudo de estresse oxidativo. O teste de Cooper, um teste internacionalmente usado para avaliar a condição física, consiste em correr-se na maior velocidade possível para se atingir a maior distância possível, em doze minutos, sendo caracterizado como um teste de alta intensidade. Existe um crescente interesse da comunidade científica envolvida com a atividade física pelo entendimento da relação entre exercício físico e produção de ROS, pois estas substâncias podem estar associadas às respostas adaptativas induzidas pelo exercício físico. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do exercício físico intenso em parâmetros oxidantes e redutores sanguíneos.

## Material e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Santa Casa de Misericórdia (SCM) de Belo Horizonte. Todos os procedimentos adotados neste estudo estão de acordo com as “Diretrizes e Normas Reguladoras das Pesquisas Envolvendo Seres Humanos” do Conselho Nacional da Saúde (Res. 196/96). Os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Participaram deste estudo 11 voluntários masculinos com idade média de  $26,54 \pm 2,2$  anos saudáveis, praticantes regulares de atividade física, sem histórico recente de lesão, não tabagistas e que não estivessem utilizando qualquer medicação (Tabela I). A avaliação física constou de medidas de massa corporal, estatura, dobras cutâneas e teste de esforço progressivo submáximo na bicicleta ergométrica.

Neste estudo o teste de Cooper foi utilizado para representar um exercício físico intenso e de duração moderada. O teste de Cooper, que foi desenvolvido pelo Dr. Kenneth H. Cooper em 1968, é mundialmente utilizado para avaliação da condição cardiorrespiratória. Neste teste, o indivíduo deve correr a maior distância possível em 12 (doze) minutos. Os valores da distância são submetidos à fórmula: distância(m) -  $504,9/44,73$  para predizer o Volume Máximo de Oxigênio ( $VO_{2máx}$ ), e o resultado é dado em  $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ .

**Tabela I** - Dados físicos dos voluntários que participaram do estudo.

Voluntário	Peso (kg)	Altura (cm)	Idade (anos)	% Gordura	VO <sub>2</sub> máx (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )
1	80	171	31	18	48
2	59,9	174	26	7,48	51,1
3	81,1	181,5	28	14,23	45
4	76,3	173	28	11,31	45,3
5	70	1.83	27	11	51
6	88,2	178	23	12,89	48
7	78,7	175	26	17,8	48,9
8	74,8	175	25	14,45	58,8
9	102,6	188	28	14,03	42,2
10	60	170	24	15,79	47,1
11	112	191	26	16,86	45,6
Média	86,62	179,5	26,54	13,98	48,27
DP	21,24	8,21	2,2	3,19	4,37

Imediatamente antes e após o teste foram coletados 15 mL de sangue venoso periférico dos atletas através da punção venosa, em tubos *vacutainers* contendo heparina como anticoagulante e dirigidos para o laboratório de Imunologia da SCM onde foram processados utilizando o protocolo de separação de leucócitos, desenvolvido por Bicalho *et al.* [9]. A contagem destes leucócitos foi feita no microscópio usando-se uma câmara de Neubauer e o número calculado pela fórmula: células/ml =  $n^{\circ} / 4 \times 10 \times \text{diluição} (100) \times 10^3$ .

O ensaio de quimioluminescência dependente de luminol permite avaliar, indiretamente, a atividade da NAD(P)H oxidase, a enzima responsável pela geração de ROS durante a fagocitose das células. A energia gasta na produção de ROS, ao ser liberada, produz luminosidade, definida como quimioluminescência nativa ou natural. Contudo, esta luminosidade pode ser amplificada usando-se reagentes químicos e os resultados foram expressos em RLU/min (Unidades Relativas de Luz por minuto). Em um tubo especial para luminômetro foram colocados: 200  $\mu$ L de luminol  $10^{-4}$  M, 500  $\mu$ L de PBS e 100  $\mu$ L de células ( $1 \times 10^5$ /mL), e a leitura foi realizada por 17 minutos no luminômetro. Após essa leitura foi adicionado então 20  $\mu$ L de ester de phorbol (PDB)  $1 \times 10^{-5}$  M, e a leitura realizada por mais 25 minutos. A quimioluminescência foi medida a cada minuto e os resultados ex-

pressos em RLU/min (unidades relativas de luz/minuto). O PDB, que é ativador fisiológico da proteína Kinase C (PKC), foi adicionado com a intenção de investigar se o teste de Cooper interferiu na via diacilglicerol-PKC (DAG-PKC), alterando a capacidade de produção de ROS pelos leucócitos.

A quantificação da produção dos produtos avançados de glicação (AGEs) foi realizada utilizando o plasma congelado em heparina de acordo com o TBARS ASSAY KIT (Cayman Chemical). O malonaldeído (MDA) é usado como indicador de lesão em células, pois ocorre em consequência natural da peroxidação lipídica, um mecanismo já bem estabelecido de dano celular em tecidos animais. Os peróxidos lipídicos, derivados de ácidos graxos poliinsaturados, são instáveis e se decompõem para formar uma série de complexos altamente reativos.

A medida das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), vastamente utilizada por pesquisadores, é um método bem conhecido para mostrar e monitorar a peroxidação lipídica (Tbars Assay Kit – Cayman Chemical). A leitura, feita em duplicata para minimizar a possibilidade de erros, foi realizada no Espectrofotômetro (UV mini-1240) da marca Shimadzu, a um comprimento de onda de 530-540 nm.

A quantificação da capacidade antioxidante foi realizada adicionando 25 µL de sal tetrazólico (MTT) a 100 µL de plasma. Este plasma foi incubado por 2 horas a 37° C e após a incubação foi acrescentado 100 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO) e homogenizou-se o tubo em vórtex. Este tubo foi centrifugado por 5 minutos a 2000 x g. A leitura do sobrenadante foi realizada no leitor de Elisa Stat Fax 2100 a 570 nm.

Todo o procedimento foi realizado em duplicata e, então, realizada uma média da leitura para redução de possíveis de erros, para todas as amostras.

Para comparar a produção de ROS, antes e depois do exercício, na presença e ausência de PDB, foi feita uma transformação de dados utilizando uma função logarítmica e utilizado o teste de Fisher. Para compararmos as médias de formação de AGEs e da Capacidade Antioxidante do plasma, foi utilizado o teste “t” de Student. Foi adotado o nível de significância de  $p \leq 0,05$  e os dados estão expressos em média e  $\pm$  desvio padrão da média.

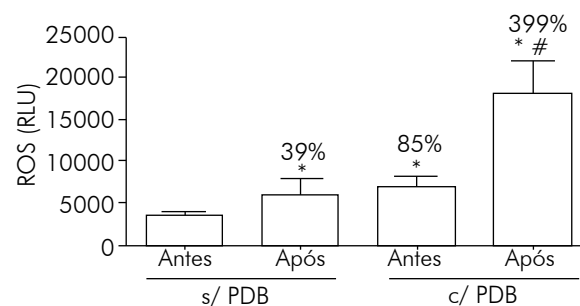
## Resultados

Para comprovar que o exercício físico (teste de Cooper) foi realizado em intensidade elevada, as variáveis FC e PSE foram registradas em 3 momentos durante o protocolo (Tabela II). O teste de Cooper aumentou em 39% a média na produção de ROS por leucócitos em RLU/min (Figura 1).

**Tabela II** - Dados individuais, médias e desvios da frequência cardíaca (FC) e percepção subjetiva de esforço (PSE) nos minutos 4, 8 e 12.

Voluntários	Fcmáx			PSEmax		
	4° min	8° min	12° min	4° min	8° min	12° min
1	126	154	189	16	18	20
2	111	150	179	15	17	19
3	118	147	198	13	17	20
4	122	152	182	12	16	20
5	106	153	192	11	13	18
6	104	162	201	12	18	21
7	121	164	202	12	18	21
8	112	160	197	13	17	21
9	124	162	193	14	17	21
10	128	163	191	15	18	21
11	112	147	175	14	17	20
Média	116,72	155,81	190,81	13,27	17	20,18
DP	8,17	6,53	8,91	1,61	1,41	0,98

**Figura 1** - Quantificação da produção de ROS (RLU/min): Antes e após o teste de esforço na presença e ausência de PDB.

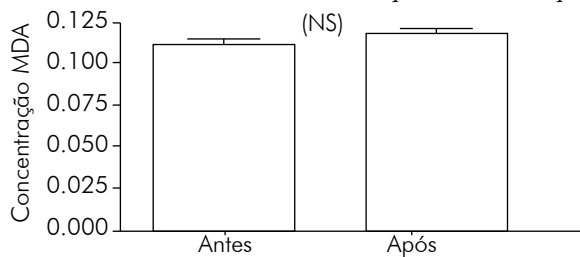


\* = experimento significativo ( $p < 0,05$ ) comparado ao controle antes do exercício sem PDB.

Estes dados demonstram que a atividade física intensa é um determinante para o aumento na produção de ROS. A Figura 1 também mostra

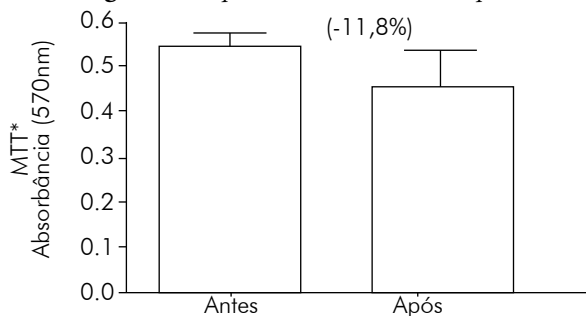
que a adição de PDB antes e após o exercício físico aumenta a produção de ROS nas duas situações em relação ao controle. Porém, após o exercício, a ativação foi superior, quando comparadas com as mesmas células antes do exercício físico. A via responsável por este aumento, provavelmente, é a via da NADPH oxidase, já que o PDB é o análogo de Diacilglicerol (DAG), que estimula as proteínas kinases C (PKCs), e estas fosforilam as subunidades citosólicas do complexo multienzimático NADPH oxidase, em uma rota de produção de ROS conhecida como DAG-PKC. A produção de Malonaldeído (MDA) foi quantificada antes e após o teste de Cooper e os resultados estão apresentados na Figura 2. Não houve diferença nas concentrações de MDA quando comparados antes e após o exercício físico. O perfil antioxidante do plasma foi avaliado através da redução direta do MTT (sal de tetrazólio) pelo plasma. Observou-se diferença significativa na capacidade de redução direta do MTT pelo plasma como mostrado na Figura 3.

**Figura 2** - Comparação entre as concentrações de Malonaldeído (MDA) antes e após o teste de Cooper.



N.S. = Não significativo.

**Figura 3** - Capacidade antioxidante do plasma.



\* = experimento significativo ( $p < 0,05$ ) comparado ao controle antes do exercício.

## Discussão

Muitos trabalhos têm mostrado que a atividade física intensa eleva a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Os resultados deste estudo mostram que a atividade física intensa e de duração moderada (12 minutos), aqui representada pelo teste de Cooper, foi um estímulo capaz de aumentar a produção (ROS) por leucócitos em 39%. No presente trabalho, foi avaliada a produção de ROS por leucócitos de forma direta, através de quimioluminescência dependente de luminol. Nenhum outro trabalho havia investigado a produção de ROS utilizando protocolo semelhante. A maioria dos estudos utiliza métodos indiretos para avaliar aumento na produção de ROS, como, por exemplo, através da medida do malonaldeído (MDA), que é um marcador de peroxidação lipídica e reage com as substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), sinalizando a existência de estresse oxidativo. Demirbag *et al.* [10] constataram que o teste de esforço na esteira, com duração média de 7.7 minutos, foi estímulo suficiente para aumentar a produção de peróxidos em sujeitos destreinados. Wang *et al.* [11] investigaram como a intensidade do exercício impacta o status redox mediado pela oxidação da LDL em monócitos. Os autores concluíram o trabalho afirmando que a atividade física de alta intensidade (80%  $VO_{2max}$ ) eleva a produção de ROS. Miyazaki *et al.* [12] investigaram se o treinamento com intensidade elevada (80%  $FC_{max}$ ), durante doze semanas, alteraria o estresse oxidativo induzido pelo exercício após um evento até a fadiga. Os autores constataram que o exercício físico até a fadiga aumenta a habilidade dos neutrófilos em produzir ROS e o treinamento diminui esta habilidade.

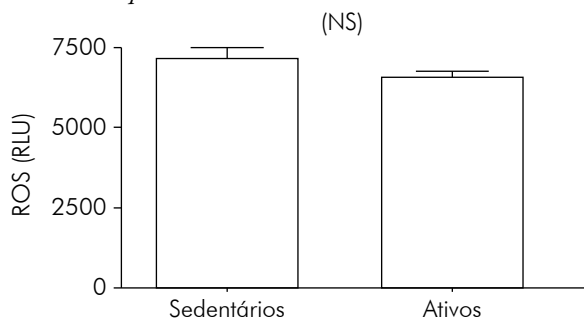
No presente estudo foi investigado se o teste de Cooper interfere na sensibilidade da PKC à estimulação por PDB. Utilizando o cálculo do índice experimento dividido pelo controle (E/C), houve diferença na ativação de 222% (dados não mostrados) entre as células que não haviam sofrido intervenção da atividade física e as células que haviam sofrido intervenção da atividade física. Como explicação para este fenômeno, pode-se argumentar que talvez a atividade física intensa, como no caso do teste de Cooper, tenha causado

a translocação das Proteínas Kinases C (PKC) do citoplasma para a membrana das células e, dessa forma, tenha facilitado o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) através da via da NADPH-oxidase. Ou seja, quando o PDB foi adicionado às células pré-estimuladas pela atividade física, o ambiente celular estava propício para a produção de ROS.

Perrini *et al.* [13] mostraram que o exercício agudo está associado ao aumento na quantidade e na fosforilação das PKC- $\lambda$  no músculo esquelético. Nenhum outro estudo investigou a intervenção da atividade física na via DAG-PKC nos leucócitos, o que dificulta a comparação destes resultados com os de outros estudos.

No nosso estudo, os níveis de MDA foram quantificados, antes e após o teste de Cooper para verificar se houve peroxidação lipídica. Os resultados mostram que o exercício físico não aumentou os níveis de MDA (Figura 4). Isto indica que, apesar da produção de ROS ser aumentada pelo teste de Cooper, não há indício de que este aumento conduza à situação de estresse oxidativo, levando a deterioração de membranas lipoprotéicas celulares e a peroxidação lipídica nesse grupo de voluntários.

**Figura 4** - Os resultados não mostram diferença entre a produção de ROS em repouso entre indivíduos fisicamente ativos e sedentários em quando analisados em repouso.



Esse resultado é bastante coerente, uma vez que, se o exercício físico como o teste de Cooper, gerasse aumento nas concentrações de MDA, essa prática, bem como outras formas de atividade física com intensidades elevadas de esforço, seriam desaconselhadas, pois poderiam causar danos irreparáveis às estruturas celulares, com consideráveis prejuízos à saúde. Vários outros autores

apresentaram resultados que corroboram este achado. Bloomer *et al.* [14] mediram a resposta de estresse oxidativo após uma série de saltos ou sprint. O MDA foi avaliado, após cada sessão, como marcador de estresse oxidativo.

Em sua conclusão, os autores afirmaram que esse modelo de exercício em homens bem treinados anaerobicamente não representou estímulo suficiente para causar estresse oxidativo, e que talvez isso pudesse ser explicado pela excelente condição física de seus voluntários. Alessio *et al.* [15] realizaram um estudo no qual compararam o estresse oxidativo entre dois modelos diferentes de atividade física: exercício aeróbico até a fadiga e exercício isométrico. Não encontraram alteração nos níveis de TBARS em nenhum modelo de exercício físico.

Leaf *et al.* [16] caracterizaram a peroxidação lipídica em exercícios de alta intensidade em sete indivíduos (homens e mulheres) saudáveis. Os níveis plasmáticos de MDA foram medidos antes e após o exercício até a fadiga e não sofreram nenhuma alteração significativa. Radak *et al.* [17] estudaram os efeitos de um longo período de treinamento (quatro semanas e quatorze meses) de natação no status oxidativo de ratos de diferentes idades e encontraram que a atividade física moderada realizada diariamente constitui uma proteção contra estresse oxidativo induzido pelo exercício, medido através das reações do TBARS. Como o teste de Cooper levou ao aumento da produção de ROS e esse aumento não instalou um quadro de estresse oxidativo, foi, então, investigado se houve alteração da capacidade antioxidante do plasma.

Os resultados mostraram que, após o teste de Cooper, a atividade antioxidante do plasma estava reduzida em 11,8%, indicando que o próprio plasma sanguíneo agiu neutralizando o aumento na produção de ROS induzido pela atividade física. Pode-se inferir que o plasma possui uma capacidade para neutralizar alterações redox no sangue quando o sistema biológico aumenta a produção de ROS. Este achado do presente estudo torna-se extremamente interessante, pois corrobora outros resultados encontrados.

Kelle *et al.* [18] encontraram, em seu estudo, uma redução da capacidade antioxidante do plasma quando seus voluntários terminaram uma meia maratona (21 km) e Demirbag *et*

al. [11], investigando se o teste de Bruce na esteira alteraria a capacidade antioxidante do plasma em indivíduos sedentários, encontraram a capacidade antioxidante do plasma reduzida pós-esforço.

Miyazaki *et al.* [13] não encontraram alteração na atividade das enzimas superóxido dismutase SOD e glutathione peroxidase imediatamente após atividade física realizada até a fadiga, contudo encontraram a atividade da SOD aumentada em 80% da intensidade máxima após um período de treinamento de corrida de 12 semanas, indicando que estas enzimas respondem ao treinamento aeróbico intenso.

Alessio *et al.* [16] investigaram se dois modelos diferentes de atividade física alterariam de forma diferente a capacidade antioxidante total medida através do ORAC (Capacidade de absorção do radical oxigênio), e perceberam que esse marcador estava aumentado nas duas situações; mais elevado, porém no exercício aeróbico até a fadiga (25%) do que no exercício isométrico (9%).

Briviba *et al.* [19] investigaram se meia maratona (21 km) e maratonas (42 km) modulam a capacidade antioxidante nos linfócitos e no plasma. Os autores concluíram que a capacidade antioxidante estava reduzida após as provas, para proteger os linfócitos contra o dano oxidativo que poderia ser causado pelo aumento na produção de espécies reativas de oxigênio.

Lee *et al.* [20] examinaram os efeitos de uma única série de exercício excêntrico no status antioxidante. As amostras sanguíneas foram coletadas antes da realização do exercício e imediatamente, 24, 48, 72 e 96 horas após a realização do mesmo. Os resultados mostraram que as concentrações de glutathione não foram afetadas pelo exercício excêntrico.

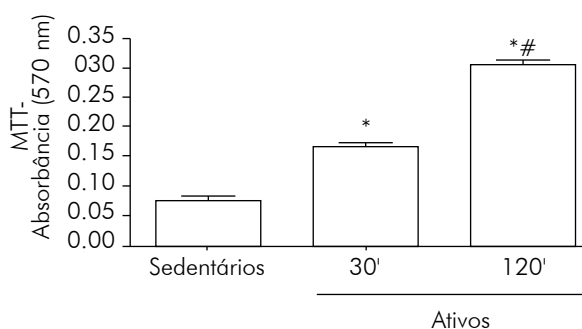
Khassaf *et al.* [21] investigaram o comportamento das enzimas SOD e GPX muscular em uma única série de exercício aeróbico até a fadiga. Biópsias foram obtidas 7 dias antes do exercício e 1, 2, 3, e 6 dias após. A SOD teve um pico de atividade três dias após o exercício, porém a CAT não alterou. Os autores concluíram que o músculo esquelético humano respondeu a uma única série de exercício aeróbico, aumentando a atividade da SOD.

Elosua *et al.* [22] testaram os efeitos do treinamento aeróbico na atividade das enzimas antioxidantes, avaliada antes e após a atividade física. A atividade enzimática foi determinada em 0, 30, 60, 120 minutos e 24 horas após o exercício. A atividade física regular aumenta a atividade da SOD e GSH. Os autores concluíram afirmando que a atividade antioxidante endógena, medida após um esforço, aumenta após um período de treinamento.

Ookawara *et al.* [23] estudaram os efeitos do treinamento da resistência e de uma sessão de exercício executada até a fadiga nos níveis plasmáticos de três isoenzimas superóxido dismutase (SOD). Nem o treinamento, nem o exercício agudo alteraram os níveis plasmáticos de CuZn-SOD. Já exercícios agudos após o treinamento aumentaram os níveis plasmáticos de Mn-SOD e os níveis de SOD extracelulares em 33,6 e 33,5%, respectivamente. O treinamento reduziu os níveis da SOD extracelulares em repouso em 22,2%. O exercício agudo após o treinamento, mas não antes do treinamento, aumentou os níveis de peroxidação lipídica. A habilidade dos neutrófilos de gerar radical anion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) foi aumentada pelo exercício agudo, porém, a produção de superóxido foi suprimida após o treinamento. Os resultados deste estudo indicam que as isoenzimas antioxidantes respondem de forma diferente ao treinamento físico e ao exercício agudo.

Neste estudo, não foi encontrada diferença entre a produção de ROS por leucócitos entre indivíduos fisicamente ativos e sedentários (Figura 5)

**Figura 5** - A capacidade antioxidante do plasma é maior em indivíduos fisicamente ativos quando comparados com sedentários em repouso.



Os resultados do presente estudo vão ao encontro de vários outros estudos, porém, é preciso salientar que ainda são necessárias outras pesquisas para se reconhecer qual modelo de atividade física que realmente eleva a produção de espécies reativas de oxigênio, sem que o sistema de defesa antioxidante consiga neutralizá-las, resultando em um quadro de estresse oxidativo, o que poderia causar danos às estruturas biomoleculares.

Apesar de existirem vários estudos avaliando alterações na produção de espécies reativas de oxigênio e o surgimento de estresse oxidativo em resposta à atividade física, ainda não existe um consenso neste tema, pois os modelos, exercícios físicos e as formas de avaliar essa produção ainda não estão padronizados, o que dificulta uma análise conclusiva.

É necessário que se padronizem os métodos de avaliação, "status" físico da amostra, duração e intensidade da atividade física. Assim, será possível comparar resultados de alteração da produção de ROS durante a atividade física e também estabelecer a relação entre atividade física e estresse oxidativo.

## Conclusão

No presente estudo o exercício físico intenso aqui representado pelo teste de Cooper, foi capaz de aumentar a produção de ROS por leucócitos. O exercício físico também aumentou a sensibilidade da PKC à estimulação por PDB e ainda diminuiu a capacidade antioxidante do plasma, contudo não foi capaz de gerar aumento na formação de produtos avançados de glicação (AGEs). A produção de ROS em repouso não é diferente entre fisicamente ativos e sedentários, porém a capacidade antioxidante do plasma em repouso é maior nos fisicamente ativos.

## Referências

1. Baker JS, McCormick MC, Robergs A. Interaction among skeletal muscle metabolic energy systems during intense exercise. *J Nutr Metabol* 2010;1:13.
2. Signorini JL, Signorini SL. Atividade física e radicais livres: aspectos biológicos, químicos, fisiopatológicos e preventivos. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1993.
3. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radical in biology and medicine. 4a ed. Oxford: University Press; 2007.
4. Schneider CD, Oliveira AR. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte* 2004;10(4):308-13.
5. Dröge W. Free radical in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* Vol 2002;82:47-95.
6. Nieves AM, Hartmann A, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int J Sports Med* 1996;17:397-403.
7. Koury JC, Donangelo CM. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Rev Nutr* 2003;16(4):433-41.
8. Smith JA, Kolbuch-Branddon M, Gillam I et al. Changes in the susceptibility of red blood cells to oxidative and stress following submaximal exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995;70(5):427-36.
9. Bicalho HMS, Gontijo MC, Nogueira-Machado JA. A simple technique for simultaneous human leukocytes separation. *J Immunol Methods* 1981;40:115-6.
10. Demirbag R, Yilmaz R, Güzel S, Çelik H, Koçyigit A, Özcan E. Effects of treadmill exercise test on oxidative/antioxidative parameters and DNA damage. *Anadolu Kardiyol Derq* 2006;6(2):135-40.
11. Wang J, Lee T, Chow S. Role of exercise intensities in oxidized low-density lipoprotein-mediated redox status of monocyte in men. *J Appl Physiol* 2006;101:740-44.
12. Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga S et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol* 2001(84):1-6.
13. Perrine S, Henriksson J, Zierath JR, Widegren U. Exercise-induced protein kinase C isoform-specific activation in human skeletal muscle. *Diabetes* 2004;53:21-4.
14. Bloomer RJ, Falvo MJ, Fry AC, Schilling BK, Smith WA, Moore CA. Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(8):1436-42.
15. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley R. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(9):1576-81.
16. Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Barstow TJ. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29(8):1036-39.



17. Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvári M et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, protein and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Rad Biol Med* 1999;27:69-74.
18. Kelle M, Diken H, Semet A, Atmaca M, Koçyigit Y. Changes in blood antioxidant status and lipid peroxidation following distance running. *J Med Sci* 1998;28:643-47.
19. Briviba WB, Nickel K, Kulling S, Bös K, Haertel S, Rechkemmer G, Bub A. A half-marathon and a marathon run induce oxidative DNA damage, reduce capacity to protect DNA against damage and modify immune function in hobby runners. *Redox Report* 2005;10(6):325-31.
20. Lee J, Goldfarb AH, Rescino MH, Hegde S, Patrick S, Apperson K. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delay onset of muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34(3):443-48.
21. Khassaf M, Child RB, Mcardle A, Brodie DA, Esanu C, Jackson MJ. Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. *J Appl Physiol* 2001;90:1031-35.
22. Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada JL, Covas MI et al. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis* 2003;167:234-7.
23. Ookawara T, Haga S, Ha S, Oh-ishi S, Toshinai K, Kizaki T, et al. Effects of endurance training on three superoxide dismutase isoenzymes in human plasma. *Free Rad Res* 2003;37(7):713-9.

# Assine já!

Revista Brasileira de  
**FISIOLOGIA  
 DO EXERCÍCIO**  
 Brazilian Journal of Exercise Physiology  
 Órgão Oficial da Sociedade Brasileira de Fisiologia do Exercício



Tel: (11) 3361-5595 | [assinaturas@atlanticaeditora.com.br](mailto:assinaturas@atlanticaeditora.com.br)