
ARTIGO ORIGINAL

Evidências de stress oxidativo e alterações eritrocitárias induzidas por uma prova de triathlon half-ironman

Evidence of oxidative stress and erythrocyte changes induced by half-ironman triathlon

Faber Sérgio Bastos Martins, D.Sc.* , José Augusto Rodrigues dos Santos, D.Sc.**

Instituto Superior de Ensino de Fafe – ESEF*, *Faculdade de Desporto – Universidade do Porto*

Resumo

Objectivo: Analisar as alterações hematológicas agudas induzidas por uma prova de triathlon longo. Avaliou-se o comportamento de diversos indicadores eritrocitários e biomarcadores de stress oxidativo em atletas portugueses masculinos de triathlon. **Material e métodos:** 10 atletas seniores masculinos ($31,5 \pm 1,2$ anos; $69,3 \pm 1,9$ kg; $177,7 \pm 1,4$ cm; $22,0 \pm 0,8$ de IMC e $10,1 \pm 2,2$ % GC) foram divididos em grupos elite e não-elite. Foram recolhidas amostras de sangue venoso periférico antes e imediatamente após as provas. Utilizou-se estatística descritiva, testes não-paramétricos de Wilcoxon e Mann-Whitney e coeficiente de correlação de Spearman. **Resultados:** Verificou-se, somente nos atletas de elite, um aumento nos valores pós-prova referentes aos indicadores CGR, Hb, HGM e CHGM ($p < 0,05$) e a diminuição do valor médio relativo ao VGM ($p = 0,020$). O aumento da actividade da enzima SOD ($p = 0,019$) ocorreu somente nos atletas de elite. Foi constatado, em ambos os grupos, um aumento da actividade da enzima GR ($p < 0,05$). Atletas de elite apresentaram valores basais mais elevados da actividade da enzima GR comparativamente aos atletas não elite (9,1%; $p < 0,05$). **Conclusão:** Os resultados encontrados sugerem que a intensidade e a duração da prova de triathlon condicionam as respostas dos diversos biomarcadores analisados em função do nível de treino dos atletas.

Palavras-chave: hemoglobina, hemólise, actividade enzimática, hematócrito, ácido úrico.

Abstract

Objective: To assess the acute hematological changes induced by a long triathlon race. We evaluated the behavior of several erythrocyte indicators and oxidative stress biomarkers in Portuguese male triathlon athletes. **Methods:** 10 male senior athletes (31.5 ± 1.2 years; 69.3 ± 1.9 kg; 177.7 ± 1.4 cm; BMI 22.0 ± 0.8 and $10.1 \pm 2.2\%$ BF) were divided into groups elite and non-elite. Samples were collected from peripheral venous blood before and immediately after the race. We used descriptive statistics, nonparametric tests of Wilcoxon and Mann-Whitney and Spearman correlation coefficient. **Results:** It has been found only in elite athletes, an increase in post-race values for the indicators CGR, Hb, HGM and CHGM ($p < 0.05$) and reduced the average value for the MCV ($p = 0.020$). The increased activity of the enzyme SOD ($p = 0.019$) occurred only in elite athletes. It was found in both groups, an increased activity of the enzyme GR ($p < 0.05$). Elite athletes had higher baseline activity of the enzyme GR as compared to non-elite athletes (9.1%, $p < 0.05$). **Conclusion:** The results suggest that the intensity and length of triathlon race can influence the responses of several biomarkers analyzed according to the level of training of athletes.

Key-words: hemoglobin, hemolysis, enzyme activity, hematocrit, uric acid.

Recebido em 10 de dezembro de 2011; aceito em 5 de junho de 2012.

Endereço de correspondência: Faber Sérgio Bastos Martins, Instituto de Estudos Superiores de Fafe, Rua Universitária, Apartado 178, 4824-909 Medelo Portugal, E-mail: faberbastos.martins27@gmail.com, jaugusto@fade.pt

Introdução

Atualmente, tem havido um grande interesse no estudo da performance nos esforços prolongados e de elevada intensidade, e nas provas do triathlon longo (ironman) em particular. Em linha de convergência, estudos tem demonstrado que atletas de esforços prolongados evidenciam reduções na taxa de concentração de hemoglobina, contagem eritrocitária e valores de hematócrito [1-3]. Embora o aumento da concentração de hemoglobina possa contribuir de forma positiva para a cinética do oxigénio durante a realização do exercício físico, é geralmente aceito que estas reduções decorram de um desproporcional aumento do volume plasmático relativamente à massa eritrocitária (hemodiluição) em resposta aos treinos em regime aeróbio de elevada intensidade [2]. Todavia, baixos valores de hematócrito mostram-se significativamente correlacionados com as melhores prestações em provas de resistência e ultrarresistência [2,4-6] o que valoriza funcionalmente a hemodiluição induzida pelo treino de resistência aeróbia. No entanto, a superior capacidade de utilização metabólica do oxigénio está relacionada com o incremento da produção de espécies reactivas de oxigénio que acentuam o stress oxidativo [7]. Neste sentido, tem sido referido por diversos autores que a realização de esforços físicos, particularmente de elevada intensidade, induz a formação acrescida de radicais livres e espécies reativas de oxigénio, provocando a instalação de um desequilíbrio oxidante/antioxidante que conduz à perda do controle da respiração mitocondrial, desencadeando alterações funcionais e estruturais das cadeias lipídicas das membranas celulares, resultando no aumento da sua permeabilidade e perda da homeostasia celular [8-12].

Material e métodos

Amostragem

A amostra foi constituída por 10 atletas masculinos da Federação Portuguesa de Triathlon, com idade média de 31,5 \pm 1,2 anos, massa corporal de 69,3 \pm 1,9 kg, estatura corporal de 177,7 \pm 1,4 cm, índice de massa corporal de 22,0 \pm 0,8 e percentagem de gordura corporal 10,1 \pm 2,2%, participantes das provas nacionais e internacionais na referida distância. Os atletas foram divididos em 2 grupos (elite e não-elite) de acordo com as respectivas posições no ranking nacional e categoria de inscrição em competições internacionais pela International Triathlon Union (ITU).

Delineamento experimental

Os respectivos grupos experimentais de atletas de triathlon realizaram uma prova de triathlon longo na distância half-ironman, composta por 1,9 km de natação, 90 km de ciclismo e 21,1 km de corrida, inserida no calendário nacional da Federação Portuguesa de Triathlon.

Para a avaliação da estatura corporal dos atletas foi utilizado o estadiômetro (marca Rudolf Martin) e para a determinação da massa corporal (kg) e percentagem de gordura corporal (%GC) dos atletas foi realizada a pesagem em balança digital de bioimpedância (marca TANITA TBF 305). Todos os atletas integrantes da amostra foram submetidos a duas coletas sanguíneas, a primeira nos instantes precedentes a cada uma das provas e a segunda, imediatamente após o seu término, sendo estas realizadas através da punção venosa na região cutânea antecubital anterior, com álcool a 95%, totalizando 20 amostras. Todas as amostras foram coletadas em tubos ETDA-K₃ de 4,5ml (BD Vacutainer) para a determinação dos indicadores eritrocitários e biomarcadores de stress oxidativo.

- *Determinações hematológicas:* Para análise dos indicadores eritrocitários efectuados nas amostras de sangue periférico, procedeu-se ao hemograma no contador hematológico GEN`S (Beckman Coulter-BC). Foram analisados os respectivos índices hematimétricos: Volume Globular Médio (VGM), Hemoglobina Globular Média (HGM), Concentração de Hemoglobina Globular Média (CHGM), Índice de Anisocitose Eritrocitária (Red blood cell Distribution Width – RDW) e indicadores: Concentração de Glóbulos Rubros (CGR), Hemoglobina (Hb) e Hematócrito (Hct).
- *Determinações bioquímicas:* As amostras de sangue periférico venoso, coletadas em tubos sem anticoagulante, com gel Z - activador da coagulação (Serum Sep Clot Activator - BD Vacutainer) de 5,0 ml para os estudos bioquímicos efectuados no soro foram centrifugadas (centrífuga “Jouan CR3” - Jouan) a 3000 rpm durante o período de 10 minutos. Não foi efectuado qualquer tipo de constrição através do uso de torniquete com o objectivo de minimizar o possível stress e lesão oxidativos induzidos pela manobra isquemia-reperusão.

A atividade da enzima superóxido-dismutase (SOD) nos eritrócitos foi determinada utilizando o kit comercial Randox RanSod Cat.No.SD 125 a 340nm. A preparação da amostra consistiu inicialmente na centrifugação de 0,5ml do sangue total durante 10 min a 3000rpm e posterior separação do plasma. Em seguida, foram realizadas 4 lavagens dos eritrócitos com solução NaCl 0,9% (3ml), sendo após cada lavagem efectuada uma centrifugação de 10 min a 3000 rpm. Ao final das lavagens e respectivas centrifugações dos eritrócitos, adicionou-se 2 ml de água bidistilada fria, agitando e permanecendo em repouso a 4°C durante 15 min. Concluindo o procedimento, foi realizada uma lavagem com 0.01mol/l de tampão fosfato pH 7,0.

A atividade sérica da enzima glutatona-reductase (GR) foi determinada utilizando um kit comercial (Randox Glutathione Reductase Control Sera GR 2608) a 340nm, seguindo as especificações do fabricante. A preparação da amostra consistiu inicialmente na centrifugação de 0.5ml do sangue

total a 2000 rpm durante 5 minutos e posterior separação do plasma. Foram efectuadas 4 lavagens dos eritrócitos com solução NaCl 0,9%, sendo após cada lavagem, os mesmos centrifugados a 2000 rpm durante 5 minutos.

O MDA plasmático foi analisado em concordância com o método descrito por Ronh *et al.* com algumas adaptações e mensurado através da formação de substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) a 535nm. Sumariamente, o plasma foi incubado a 25°C em 500µL de uma solução contendo 175mM KCl, 10 mM Tris, pH 7.4. Amostras de 50 µL foram retiradas e diluídas com 450 µL de reagentes TBARS (1% ácido tiobarbitúrico, 0.6N HCl, 0.0056% hidroxitolueno butilado). Posteriormente, a mistura foi aquecida a 80-90°C durante o período de 15 minutos e recolocada em gelo por um período de 10 minutos que antecederam a centrifugação numa centrífuga de Eppendorf (1500g) durante 5 minutos. O conteúdo de TBARS formado foi calculado utilizando o coeficiente de extinção molar de $1.56 \times 10^5 \text{ m}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e expresso em nanomoles de MDA por miligrama de proteína.

A atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPx) nos eritrócitos foi determinada utilizando um kit comercial Randox RanSel Cat.No.SC 692 a 340 nm.

A atividade sérica da enzima gama-glutamyltransferase (GGT) foi determinada pelo método turbidimétrico a 340 nm, utilizando um kit comercial HORIBA ABX Pentra GGT CP (Montpellier, FR, Ref^o A11A01625).

O status antioxidante total (TAS) foi medido espectrofotometricamente utilizando um kit comercial (Randox NX2332 Crumlin, UK). Esta determinação foi baseada na redução de radicais livres (ABTS⁺-2,2-azinobis(3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) medida como um decréscimo na absorvência a 600nm aos 3 minutos. O radical ABTS⁺ é formado pela interacção do ABTS com as espécies de radicais de ferilmio-globina, gerados pela activação da met-mioglobina com o peróxido de hidrogénio. A diminuição da absorvência do radical por acção de antioxidantes plasmáticos foi comparada e induzida pelo Tropos (6-hidroxi-2,5,7-tetrametichromano-2 ácido carboxílico). Os resultados foram expressos em mmol/l de equivalentes de Trolox (600 nm).

O conteúdo de ácido úrico foi determinado através de um método enzimático a 550nm utilizando um kit comercial

HORIBA ABX Pentra (Montpellier, FR, Ref^o A11A01670) de acordo com as determinações específicas do fabricante.

Tratamento estatístico

Foram utilizados como medidas descritivas a média e o desvio-padrão. Dado o reduzido valor das amostras e devido ao facto dos referidos parâmetros analisados no presente estudo não reunirem os pressupostos necessários para a adopção dos procedimentos paramétricos (homogeneidade da variância e normalidade da distribuição) foram utilizados os testes não-paramétricos. Para a comparação das médias pré e pós-esforço obtidas nas respectivas provas de triatlo analisadas, foi utilizado o teste de Wilcoxon para medidas repetidas e para a análise intergrupos recorreu-se ao teste de Mann-Whitney para amostras independentes. Para verificar os níveis de associação entre as variáveis investigadas no estudo, recorreu-se ao coeficiente de correlação de Spearman. Os níveis de significância foram mantidos em 5% ($p < 0,05$). Os procedimentos estatísticos foram tratados e analisados nos programas ExcelTM 2000 e Statistical Package for the Social Sciences (SPSSTM. Versão 16.0).

Resultados

Relativamente aos indicadores eritrocitários pós-esforço (Tabela I), importam salientar os aumentos observados nos atletas de elite relativos à concentração de glóbulos rubros (CGR), a concentração de hemoglobina (Hb) e índices hematimétricos: concentração de hemoglobina globular média (CHGM) e hemoglobina globular média (HGM) e a diminuição no volume globular médio (VGM). No que respeita aos valores basais, ambos os grupos não evidenciaram diferenças nos respectivos eritogramas.

Após a prova de triathlon half ironman foi observado no grupo elite, o aumento de 36,2% na actividade da enzima SOD eritrocitária ($p = 0,019$) e a diminuição de 8,4% na actividade da enzima glutathiona-reductase ($p = 0,043$), enquanto no grupo não-elite, verificou-se somente a diminuição de 21,7% da actividade da enzima GR ($p=0,049$), conforme demonstrado na Tabela II.

Tabela I - Efeito da prova de triathlon longo nos diferentes indicadores eritrocitários dos atletas.

Indicadores Hematológicos	Triatletas Elite (n=5)			Triatletas não-Elite (n=5)		
	x; $\bar{x} \pm Dp$		p	x; $\bar{x} \pm Dp$		p
	Pré-Prova	Pós-Prova		Pré-Prova	Pós-Prova	
CGR (10 ⁶ /µL)	4,8	5,0 ± 0,1*	0,038	4,9 ± 0,4	5,0 ± 0,3	0,540
Hb (g/dL)	14,4 ± 1,5	14,7 ± 1,2*	0,045	14,5 ± 0,5	14,6 ± 0,1	0,371
Hct (%)	41,5 ± 0,9	42,2 ± 0,7	0,322	42,0 ± 4,5	42,0 ± 3,4	0,922
VGM (fL)	84,9 ± 3,6	83,8 ± 3,7*	0,020	85,9 ± 1,8	85,6 ± 1,6	0,078
HGM (pg)	29,3 ± 1,5	29,7 ± 1,4*	0,017	30 ± 0,5	30,1 ± 0,5	0,893
CHGM (g/dL)	34,5 ± 1,0	35,4 ± 1,2*	0,010	34,9 ± 0,6	35,1 ± 0,3	0,412
RDW (%)	13,0 ± 0,8	13,1 ± 0,7	0,749	13,0 ± 0,5	12,9 ± 0,3	0,290

Nota: Valores expressos pela média ± desvio-padrão (x; $\bar{x} \pm Dp$). * $p < 0.05$, vs. Pré-Prova.

Tabela II – Efeito da prova de triathlon longo nos indicadores de stress oxidativo dos atletas.

Stress Oxidativo	Triatletas Elite (n=5)			Triatletas não-Elite (n=5)		
	x; $\bar{x} \pm Dp$		p	x; $\bar{x} \pm Dp$		p
	Pré-Prova	Pós-Prova		Pré-Prova	Pós-Prova	
SOD (U/gHb)	538,4 ± 108,8	733,8 ± 119,8*	0,019	510,1 ± 135,6	694,3 ± 138,3	0,138
GPX (U/gHb)	55,5 ± 7,4	53,6 ± 3,9	0,500	50,1 ± 9,2	45,6 ± 8,3	0,225
GR (U/l)	79,7 ± 4,4	73,5 ± 1,6*	0,043	81,3 ± 13,4	66,8 ± 3,8*	0,049
TAS (mmol/l)	1,7	1,8 ± 0,1	0,068	1,8 ± 0,1	1,8	0,893
TBARS(μmol/l)	4 ± 1,1	4,4 ± 0,8	0,225	3,7 ± 0,7	3,9 ± 0,9	0,786
AU (mg/dl)	5,6 ± 1,1	6,3 ± 2,1	0,334	6,0 ± 1,4	6,6 ± 2,0	0,588

* p < 0.05, vs. Pré-Prova

Uma comparação intergrupos dos referidos indicadores de stress oxidativo analisados na prova de triathlon longo half ironman, permite verificar que relativamente aos valores basais, assim como os valores pós-esforço, não foram encontradas diferenças entre os respectivos grupos de atletas analisados.

Discussão

A realização de esforços físicos prolongados e de elevada intensidade induz um stress físico e metabólico capaz de promover importantes alterações no perfil hematológico dos atletas de provas de resistência [2,13,14]. Neste sentido e assumindo uma perspectiva longitudinal, centrada nas adaptações crónicas moduladas pelo treino aeróbio regular e sistemático, a constatação de reduzidos valores do hematócrito, como verificado nos triatletas de elite, mostra-se consensual na literatura e parece resultar de uma sobrecompensação induzida pelos diversos episódios de hemoconcentração aguda determinados pelas intensas cargas de treino, o que por vezes, se traduz numa incorrecta interpretação dos valores presentes do eritrograma, indicando um falso estado de anemia, denominada pseudo-anemia dilucional ou anemia do desportista [15]. De facto, num estudo realizado com 92 ciclistas masculinos treinados, verificou-se uma diminuição significativa dos valores referentes à eritrometria, hematócrito e hemoglobina concomitante ao aumento das respectivas cargas de treino [16].

A hipervolemia evidenciada em atletas de provas de endurance, por vezes superior a 20%, pode ser atribuída ao aumento dos níveis plasmáticos de renina, aldosterona e vasopressina, como forma de compensação da redução aguda no volume plasmático sanguíneo durante o esforço, e ao aumento da concentração plasmática de albumina, a qual eleva a osmolalidade do sangue, aumentando de forma significativa o volume líquido extracelular, promovendo o aumento do débito cardíaco e a diminuição da viscosidade, optimizando a microcirculação [2,15-17,21]. Estas alterações têm sido atribuídas a factores como a hemodiluição acentuada, a desproporção entre a hematopoiese e a ocorrência da hemólise intravascular ou a deficiência/redução de ferro no organismo [17,16]. Contudo, o comportamento dos diferentes indicadores eritrocitários em atletas pode mostrar-se conflitual, podendo ser condicionado por diversos factores, entre os quais se salientam a duração e

a intensidade das cargas de treino, o estatuto nutricional e o nível de treino do atleta [18]. No que respeita a intensidade das cargas de treino, alguns autores [19] constataram uma redução significativa de 73% dos níveis séricos de ferritina após submeterem um grupo de 11 ciclistas treinados a um programa de 6 semanas de treino intenso intervalado. Este resultado suporta um estudo posterior [20] que estabeleceu evidências de que a realização de esforços físicos de elevada intensidade induz uma diminuição dos níveis séricos de ferritina, aumento da absorção intestinal de ferro e redução das reservas de ferro no fígado e na medula óssea.

Um aumento da massa eritrocitária traduz-se na melhoria da prestação em esforços de carácter aeróbio, visto que os eritrócitos novos apresentam uma maior capacidade de deformação, o que favorece um transporte mais eficiente do oxigénio para o tecido muscular [16]. A deformação do eritrócito é influenciada pela fluidez interna, pela relação volume/área da superfície celular e pelas propriedades físicas da membrana, como por exemplo, a composição dos fosfolípidos da membrana [21]. Em linha de convergência, um estudo realizado com ciclistas treinados constatou que os eritrócitos presentes nestes atletas apresentavam uma maior capacidade de deformação comparativamente aos indivíduos destreinados, sendo também verificada uma menor percentagem de células densas e um volume globular médio (VGM) superior, o que constitui um indicativo de elevada proporção de células jovens (*turnover* eritrocitário) [22]. Importa salientar, que uma análise do perfil hematológico referente aos índices hematimétricos VGM, HGM e o RDW, apresentados pelos triatletas no momento pré-prova, permite-nos constatar a ausência de sintomas de anemias microcítica (VGM < 80fl) ou macrocítica (VGM > 100fl), assim como quadros sugestivos de hipocromia (HGM < 27pg) e talassemia (VGM < 80fl; HGM < 27pg e RDW > 15%).

Após a realização da prova, foram constatados nos triatletas de elite, aumentos dos valores relativos à concentração de glóbulos rubros e a concentração de hemoglobina. O aumento da viscosidade sanguínea (hemoconcentração) verificado no período imediatamente após o exercício físico é normalmente atribuído ao incremento dos valores do hematócrito, resultante da transferência de fluidos do sangue para o espaço intersticial, por meio de uma aumentada permeabilidade

capilar e elevada pressão osmótica na musculatura activa [16,23]. A presente asserção suporta a diminuição constatada, nos atletas de elite, dos valores médios referentes ao VGM e o aumento dos valores relativos à CHGM, comportamentos que indiciam a ocorrência de uma desidratação, caracterizada por uma alteração do fluido do compartimento intracelular do eritrócito para o espaço intravascular [2,24]. Relativamente ao comportamento dos indicadores de stress oxidativo, uma análise da tabela II permite-nos verificar um aumento da actividade da enzima SOD eritrocitária no grupo elite ($p < 0,05$), o que evidencia uma condição acrescida de stress oxidativo induzido pela respectiva prova.

Efectivamente, a enzima SOD tem como função principal catalisar a conversão do radical superóxido (O_2^-) em oxigénio (O_2) e peróxido de hidrogénio (H_2O_2), estando o aumento da sua actividade relacionado com a resistência aumentada ao stress oxidativo [25,26]. O aumento da actividade da enzima SOD eritrocitária, evidenciado nos atletas de elite, corrobora os estudos anteriores realizados com atletas de natação [27], ciclismo [28] e corrida [29-31], embora conflitue com os resultados encontrados em atletas competitivos de triathlon [7] e em ciclistas profissionais [32], a referida actividade enzimática pós-esforço se mostrou inalterada. Estudos similares, porém contemplando amostras de atletas de triathlon de distância olímpica (1,5km de natação, 40 km de ciclismo e 10 km de corrida) verificaram, contrariamente ao observado no presente estudo, uma diminuição significativa da actividade da enzima SOD eritrocitária [33-35].

Esta discrepância no comportamento da actividade da enzima SOD pode resultar dos diferentes procedimentos de avaliação adotados nos referidos estudos, assim como do modelo de exercício físico agudo realizado. Adicionalmente, importa aduzir a influência de factores como a intensidade do esforço e o balanço inicial das enzimas antioxidantes na geração de diferentes espécies reactivas de oxigénio [36]. Em convergência, alguns autores reiteram a importância do estado de treino na prevenção dos danos oxidativos induzidos pelos esforços físicos prolongados, uma vez que indivíduos treinados apresentam uma maior população de eritrócitos jovens, os quais se mostram mais resistentes ao stress oxidativo, reduzindo a incidência de hemólise [37]. Neste contexto, o treino aeróbio parece constituir um importante fator de ativação do sistema enzimático antioxidante, tendo em vista as espécies reactivas produzidas durante o estímulo da contração muscular desempenharem um papel preponderante no processo da adaptação muscular ao stress oxidativo, através da ativação da transdução de sinais para a síntese de enzimas antioxidantes sensíveis ao estado redox [38,39].

A substantivar, as enzimas antioxidantes contêm uma sequência de genes reguladores sensíveis à alteração do estado redox que interagem com factores de transcrição, possibilitando a regulação da sua expressão genética [40]. Assim, o aumento da actividade da SOD eritrocitária, observado no grupo elite, poderá ser justificado pela ação da actividade contráctil

no processo de sinalização intracelular, condicionada pelas espécies reativas de oxigénio e nitrogénio (ERON), conduzindo à expressão de genes responsáveis pela codificação de proteínas antioxidantes [38]. No que respeita ao comportamento da actividade plasmática da enzima GR, caracterizada pelas diminuições ($p < 0,05$) de 8,2% e 21,7% nos grupos elite e não-lite, respectivamente, corrobora o comportamento observado em estudos realizados com atletas de provas similares [7,33,35]. A enzima GR actua na detoxificação das ERO, mais especificamente no controlo dos níveis de H_2O_2 celular, sendo fundamental para o normal funcionamento da enzima antioxidante GPx [41]. De facto, a interacção das enzimas GPx e GR sobre o equilíbrio redox celular GSH/GSSG condiciona os níveis intracelulares de GSH [42]. A diminuição na actividade da enzima GR nos respectivos grupos de atletas analisados parece estar associada à diminuição da concentração de NADPH, um importante substrato que actua como co-factor e agente redutor fundamental na reação de redução da glutatona oxidada (GSSG) à glutatona reduzida (GSH), catalisada pela enzima GR. No tecido muscular esquelético, a elevada oxidação da glutatona resulta no aumento da razão GSSG/GSH, favorecendo a ocorrência de stress oxidativo [26,46,47]. Nessa condição, o fígado promove o aumento da libertação de glutatona para a circulação sanguínea, elevando a captação e a capacidade antioxidante do tecido muscular esquelético durante o processo de contração [48]. A glutatona é predominantemente regenerada no músculo esquelético e no fígado, a partir do NADPH, um importante produto da via das pentoses, utilizado como substrato pela enzima GR [49]. Contudo, este processo de regeneração da glutatona é regulado pelas concentrações de glucose-6-fosfato (G6-P), um intermediário da via glicolítica, cuja concentração é mantida a partir da degradação do glicogénio [50]. Assim, em resposta a realização de esforços físicos prolongados como as provas de triathlon, a depleção das concentrações endógenas de glicogénio muscular e hepático reduziria a actividade da via glicolítica, diminuindo a disponibilidade de G6-P como substrato, favorecendo a alteração do estado redox intracelular para um estado mais oxidado, podendo desta forma, conduzir ao aumento na oxidação dos grupos tióis de proteínas com funções sinalizadores importantes durante a actividade muscular [26,46].

Conclusão

Os resultados do presente estudo revelam a constatação de evidências de stress oxidativo, após a realização da prova de triathlon longo, somente nos atletas do grupo elite. Esta resposta, traduzida em valores acrescidos da actividade da enzima SOD eritrocitária, reforça a alteração sistémica pró-oxidante induzida pelos esforços que requerem elevado consumo de oxigénio. Todavia, não foram verificadas evidências de danos oxidativos aos lipídeos, mensuradas no comportamento dos valores de TBARS.

Referências

1. Saad PC. Histologic and histochemical analysis of fibers of rectus of abdomen and paraesternal intercostal muscles of Wistar rats after swimming exercise. *Brazilian Journal of Sports Medicine* 2002;8(4):63-72.
2. Rietjens GJ, Kuipers H, Hartjens F, Van Breda E. Physiological, biochemical and psychophysical markers of strenuous training-induced fatigue. *Int J Sports Med* 2005;26(1):16-26.
3. Wehrlin J, Zuest P, Marti B. Live high train low for 24 days increases hemoglobin mass and red cell volume in Elite endurance athletes. *J Appl Physiol* 2006;100:1938-45.
4. Rietjens GJ, Kuipers H, Hartjens F, Keizer M. Red blood cell profile of elite Olympic distance triathletes. A three year follow-up. *Int J Sports Med* 2002;23(6):391-6.
5. Mujica I, Padilla C, Pyne D, Busso T. Physiological change associated with the pre-event taper in athletes. *Sports Med* 2004;34(13):891-27.
6. Skenderi P, Kavouras S, Anastasiou C, Yiannakouris N, Matalas A. Exertional rhabdomyolysis during a 246km continuous running race. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(6):1054-7.
7. Palazzetti S, Richard M, Margaritis I. Overload training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Can J Appl Physiol* 2003;2884:588-604.
8. Pollack M, Leeuwenburgh C. Molecular mechanisms of oxidative stress in aging: free radicals, aging, antioxidants and disease. *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise*. Basel: Elsevier Science B.V; 2000. p.881-923.
9. Leeuwenburgh C, Heineck J. Oxidative stress and antioxidants in exercise *Curr Med Chem* 2001;8:829-38.
10. Banerjee AK. Oxidant, antioxidant e physical exercise. *Mol Cell Biochem* 2003; 253:307-12.
11. Cadenas E. Mitochondrial free radical production and cell signalling. *Mol Aspects Med* 2004;25:17-26.
12. Benard G, Rossignal R. Ultrastructure of the mitochondrial and its bearing on function and bioenergetics. *Antiox & Redox Signaling* 2008a;10(8):1313-42.
13. Watson T, Lesley K, MacDonald-Wicks LK, Garg M. Oxidative stress and antioxidants in athletes undertaking regular exercise training. *Int J Sports Nutr Exerc Metab* 2005;15(2):131-46.
14. Yusof A, Leithauser R, Roth H, Beneke R. Exercise-induced hemolysis is caused by protein modification and most evident during the early phase of an ultraendurance race. *J Appl Physiol* 2007;102:582-6.
15. Green HJ, Sutton JR, Ali M, Jones S. Response of red cell and plasma volume to prolonged training in humans. *J Appl Physiol* 1991;70:1810-5.
16. Schumacher YO, Schimid A, Grathwohl D, Bultermann D, Berg A. Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performances. *Med Sci Sports Exerc* 2002a;34(5):869-75.
17. O'Toole L, Douglas S, Hiller PD, Laird RH. Hematocrits of triathletes: is monitoring useful? *Med Sci Sports Exerc* 1999;31(3):372-7.
18. Shinkai S, Kurokawa Y, Hino S, Watanabe S, Watanabe T. Triathlon competition induced a transient immunosuppressive change in the peripheral blood of athletes. *J Spots Med Phys Fitness* 1993;33:70-8.
19. Wilkinson J, Martin D, Adams A, Liebman M. Iron status in cyclists during high-intensity interval training and recovery. *Int J Sports Med* 2002;544-8.
20. Dubnov G, Constantini NW. Prevalence of iron depletion and anemia in top-level athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2004;14(1):30-7.
21. Smith JA. Exercise, training and red blood cell turnover. *Sports Med* 1995;19(1):9-31.
22. Smith JA, Martins DT, Telford RD, Ballas SK. Greater erythrocyte deformability in world-class endurance athletes. *Am J Physiol* 1999;276(45): 2188-93.
23. El-Sayed MS, Ali N, Ali Z, El-Sayed. Haematology in exercise and training. *Sports Med* 2005;35(8):649-70.
24. Neumayr G, Pfister R, Mitterbauer G, Hoernagl H. Short-term effects of prolonged strenuous endurance exercise on the level hematocrit in amateur cyclists. *Int J Sports Med* 2001;158-61.
25. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress-relationship with exercise and training. *Sports Med* 2006;36(4):327-58.
26. Jackson M, Pye D, Palomero J. The production of reactive oxygen and nitrogen species by skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2007;102:1664-70.
27. Aguilar-Silva SR, Cintra BB, Milami S, Tsuji H. Blood antioxidant status: a parameter to establish the swimmer performance. *Rev Bras Cienc Mov* 2002; 10(3):7-11.
28. Mena P, Maynar M, Gutierrez JM, Timon J, Campillo J. Erythrocyte free radical scavenger enzyme in bicycle professional racers: adaptation to training. *Int J Sports Med* 1991;12(6):563-66.
29. Marzatico F, Pansarasa L, Bertorelli L, Somenzini L, Valle D. Blood free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J Sports Med Phys fitness* 1997;37:235-39.
30. Hessel E, Haberland A, Miller M, Lerche D, Schimke I. Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running? *Clin Chim Acta* 2000;1-2:145-56.
31. Selamoglu S, Turgay F, Kayatekin B, Yslegen C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of blood. *Acta Physiol Hung* 2000;87(3):267-273.
32. Aguiló A, Tauler P, Fuentespina E. Antioxidant response to oxidative induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav* 2005;84(1):1-7.
33. Schneider CD, Belló-Klein A, Oliveira AR. Effect of ultra-endurance exercise on oxidative stress parameters. *Braz J Sports Med* 2007;15(2):89-92.
34. Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. Oxidative stress in half and full ironman triathletes. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39(2):283-88.
35. Neubauer O, König D, Nics L, Wagner K. No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40(12): 2119-28.
36. Tauler P, Aguiló A, Aguiló P, Jimenez F, Villa G, Tur JA. Pre-exercise antioxidant enzymes activities determine the antioxidant enzyme erythrocyte response to exercise. *J Sports Sci* 2005;23(1):5-13.
37. Senturk UK, Gunduz F, Kuru O, Ozkaya YG. Exercise-induced oxidative stress leads hemolysis in sedentary but not trained humans. *J Appl Physiol* 2005;99(4): 1434-41.
38. Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: role of redox signalling. *Free Radic Biol Med* 2007b;44:142-52.

39. Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med* 2000;28:463-99.
 40. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and biology of ageing. *Nature* 2000;408(6809):239-47.
 41. Powers SK, Sen CK. Physiological antioxidants and exercise training. *Handbook of oxidants and antioxidants exercise*. Basel: Elsevier Science B.V; 2000.p. 221-42.
 42. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 31(7):987-997.
 43. Margaritis I, Tessier F, Verdera F, Bermon F. Muscle enzymes release does not predict muscle function impairment after triathlon. *J Sports Med Phys Fitness* 1999;39:133-9.
 44. Hellsten Y, Svensson M, Sjodin B, Christensen A, Richter EA, Bangsbo J. Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med* 2001;31:1313-22.
 45. Inal M, Akyus F, Turgut A, Getsfrid W. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33:564-67.
 46. Sen CK. Cellular thiols and redox-regulated signal transduction. *Curr Top Cell Regul* 2000;36:1-30.
 47. Barreiro E, Galdiz J, Marinan M, Gea J. Respiratory loading intensity and diaphragm oxidative stress: N-acetyl-cysteine effects. *J Appl Physiol* 2006;100:555-63.
 48. Gohil K, Vigui C, Stanley W, Brooks C, Packer L. Blood glutathione oxidation during human exercise. *J Appl Physiol* 1988;64:115-19.
 49. Leeuwenburgh C, Ji LL. Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats. *J Nutr* 1996;126:1833-43.
 50. Newsholme EA, Leech AR. *Biochemistry for the medical sciences*. Toronto: Wiley 1983. p.623-27.
-