

## **INFLUÊNCIA DO VO<sub>2</sub> MÁX NO ESTRESSE OXIDATIVO EM SUJEITOS SUBMETIDOS A TRABALHO AERÓBICO.**

**Adriano Teixeira Pereira  
André Gustavo Albuquerque Cunha  
Carlos Jean Jacques Guedes  
Fabiano Sousa da Rosa  
Leonardo Schiller Cechin  
Marcones dos Santos Silveira  
Michel Firmino Azevedo  
Paulo Cavalcanti de Araújo Júnior  
Rossano Pacheco Assumpção Machado  
Kelmerson Henri Buck  
Elenilda J. Pereira  
Elis C. A. Eleuthério  
Marcelo Eduardo de Almeida Martins  
Rafael Soares Pinheiro-DaCunha  
Marcos Antônio de Mattos La Porta Júnior.**

Escola de Educação Física do Exército (EsEFEx) - Rio de Janeiro - Brasil

### **Resumo**

O corpo humano, quando submetido a uma atividade física, aumenta a velocidade da respiração mitocondrial nos músculos ativos, o que leva a um extravasamento de elétrons das mitocôndrias e à formação de espécies ativas de oxigênios (EAO)/ radicais livres de oxigênio (RLO), provocando o desenvolvimento de doenças, fadiga e lesões dos tecidos, que podem ser medidos indiretamente pela peroxidação lipídica (PL). O objetivo do estudo foi comparar o estresse oxidativo, através da PL, entre indivíduos com níveis de VO<sub>2</sub>máx abaixo da média e excelente, quando submetidos a uma corrida contínua de 40 minutos a 67,5% do VO<sub>2</sub>máx. Participaram da amostra 18 indivíduos divididos em 02 (dois) grupos: G1 (considerados abaixo da média) composto por 10 indivíduos; e o G2 (considerados excelente) composto por 8 (oito) indivíduos. Utilizou-se o teste de 12 minutos de Cooper para pré-selecionar a amostra e o teste de

Léger-Boucher para mensurar e separar a amostra quanto ao VO<sub>2</sub>máx. No dia seguinte, os indivíduos realizaram a corrida contínua de 40 minutos a 67,5% do VO<sub>2</sub>máx. Foram analisadas amostras do plasma no pré e pós-exercício. Apesar dos resultados mostrarem que, estatisticamente, não houve uma diferença significativa intergrupos e intragrupos ( $F = 1,2417$  para  $p = 0,28161$ ), há indícios de existir diferença entre os grupos. Foi constatado que a PL apresentou distribuição normal. Foi verificada homogeneidade das amostras, que apresentaram ( $p = 0,10$ ) para peroxidação lipídica. Foi utilizado o teste ANOVA two way, não apresentando diferença significativa entre o pré e pós-exercício, intragrupos e intergrupos ( $F = 1,2417$  para  $p = 0,28161$ ) para a variável peroxidação lipídica. Da análise dos resultados, concluiu-se que não houve diferença significativa intergrupos e intragrupos para PL, ou seja, após o exercício, o G1 e o G2 apresentaram os mesmos níveis de estresse oxidativo.

**Palavras Chave:** Peroxidação lipídica; Estresse oxidativo; Radicais Livres; Corrida contínua.

Recebido em 25/11/2004. Aceito em 17/01/2005

## THE INFLUENCE OF OXIDATIVE STRESS IN SUBJECTS SUBMITTED TO AEROBIC EXERCISE

### Abstract

The human body, when submitted to physical activity, increases the speed of the mitochondrial breathing in the active muscles, which leads to an electron extravasation of the mitochondrias and to the formation of active species of oxygen (EAO)/radicals free of oxygen (RLO). provoking the development of illnesses, fatigue and injuries of the tissues, that can be measured indirectly by lipid peroxidation (LP). The objective of the study was to compare oxidative stress, through LP, between individuals with levels of  $VO_2$  Max considered below average and excellent, when submitted to a continuous race of 40 minutes 67.5% of the  $VO_2$  Max. 18 individuals divided into 02 (two) groups participated in the sample: G1 (considered below average) composed for 10 (ten) individuals; and G2 (considered excellent) composed for 08 (eight) individuals. The Léger-Boucher test was used to measure and separate the sample in terms

of  $VO_2$  Max. On the following day, the individuals ran a continuous race of 40 minutes 67.5% of the  $VO_2$  Max and samples of plasma were analyzed before and after exercise. Despite the results showing that statistically there was not a significant difference inter-groups and intra-groups ( $F = 1,2417$  for  $p = 0.28161$ ), there were indications that differences existed between the groups. It was evident that LP presented normal distribution. The homogeneity of the samples was verified, which presented ( $p = 0,10$ ) for lipid peroxidation. The ANOVA two way test was used which did not present significant difference between before exercise and after exercise, intra-groups and inter-groups ( $F = 1,2417$  for  $p = 0.28161$ ) for lipid peroxidation. From the analysis of the inter-group and intra-group results it was concluded that there was not significant difference for LP, or that after exercise G1 and G2 presented the same levels of oxidative stress.

**Key words:** Lipid Peroxidation; Oxidative Stress; Free Radicals; Continuous race.

## INTRODUÇÃO

O consumo de oxigênio no corpo humano é aumentado muitas vezes quando o indivíduo encontra-se em intensa atividade física (Rokitzki et al., 1994; Sies et al., 1992). A utilização de oxigênio pelos músculos esqueléticos, durante esforços físicos intensos, pode aumentar em cerca de 100 a 200 vezes, quando comparados com o consumo na situação de repouso (Davies et al., 1982; Sjodin et al., 1990). Existem afirmações de que, com o aumento no consumo de oxigênio, no exercício físico, por exemplo, tem-se um aumento no fluxo de elétrons devido ao crescimento da velocidade da respiração mitocondrial no músculo ativo, podendo levar a um aumento do extravasamento de elétrons e, conseqüentemente, a uma maior formação de espécies reativas de oxigênios.

Das espécies comumente citadas como radicais livres temos: peróxido de hidrogênio, ânion superóxido, oxigênio singlet e hidroxila. Apenas o

ânion superóxido e a hidroxila possuem uma real estrutura de radical livre, com um elétron desemparelhado na camada de valência. As demais são consideradas espécies intermediárias, que, por mecanismos de reações diferentes, originam os radicais. (Signorini, Signorini, 1995).

O alto rendimento energético da respiração só é possível pela alta capacidade oxidativa do oxigênio. No entanto, estratégias especiais de proteção foram oferecidas aos seres aerobiantes que conseguem tolerá-lo. Esse controle sobre a reatividade do  $O_2$  é exercido, mais eficazmente, por uma enzima da cadeia respiratória mitocondrial, a citocromo-oxidase. Porém, o processo de oxidação na mitocôndria é muito dinâmico e a citocromo-oxidase não consegue conduzir o mecanismo redutivo a todas as moléculas que adentram o espaço interno da célula. Cerca de 5% de todo o  $O_2$  que nela permeia são, assim, desviados de sua rota enzimática principal e acabam sendo reduzidos monoeletronicamente, originando os Radicais Livres de Oxigênio (RLO). (Signorini, Signorini, 1995).

Têm-se, então, os fatores ditos exógenos e os endógenos envolvidos no combate aos RLO, ou seja, que neutralizam a ação dos RLO (antioxidantes). Dentre os fatores endógenos, encontram-se três enzimas: superóxido dismutase (SOD, inativadora do ânion superóxido), a glutathione peroxidase (GPO, inativadora dos peróxidos lipídicos e peróxido de hidrogênio) e a catalase (CAT, inativadora do peróxido de hidrogênio). No rol dos fatores exógenos, encontram-se substâncias como as vitaminas A, E, C, B2, B3, B8, beta caroteno e outras moléculas aparentadas dos carotenóides (Signorini, Signorini, 1995). Quando a formação de RLO/ EAO supera a capacidade antioxidante do corpo, gera-se o estresse oxidativo - EO (Fiamoncini, 2002).

Durante o estresse oxidativo descontrolado, ocorre a deteriorização dos ácidos graxos existentes na membrana plasmática, que acaba sendo lesada em virtude de uma série de eventos em cadeia que recebem a designação de peroxidação lipídica (McArdle, 1998). Este processo está associado com o aparecimento e o aumento da gravidade de diversas doenças (Arnes et al., 1993; Guttridge, 1993).

Alguns autores afirmam haver uma relação direta entre o aumento de RLO gerado durante o exercício e alguns danos causados ao organismo, dentre os quais o aumento da peroxidação lipídica (Meydane et al., 1993).

Mas há grandes controvérsias se o EO e seus subseqüentes danos ao organismo estão verdadeiramente associados com o exercício físico. Os estudos realizados apresentam variações na intensidade, duração e tipo de atividade física escolhida. Somando-se a isso, variações no nível de condicionamento físico dos indivíduos e nos protocolos utilizados para avaliar os danos oxidativos têm contribuído para a inconsistência das pesquisas. Juntos, estes fatores têm corroborado para a falta de consenso com relação ao exercício-indução do estresse oxidativo. (Mastaloudis et al., 2001).

Surge, então, o questionamento: haveria diferença na produção de radicais livres entre indivíduos com níveis de  $VO_2$ máx considerados abaixo da média e excelente, respectivamente (segundo o Canadian Standardized Test of Fitness - CSTF - Operations Manual) quando submetidos a uma corrida contínua de 40 minutos a 67,5% do  $VO_2$ máx., que, segundo Achten et al. (2002) e

Jeukendrup et al. (2003), tal valor encontra-se dentro da faixa de consumo de oxigênio onde se têm a máxima oxidação de gorduras.

## METODOLOGIA

### Tipo de pesquisa

É uma pesquisa tipo comparação de caráter experimental e quantitativa, "antes e depois", onde foram analisadas as variáveis relacionadas ao estresse oxidativo em elementos fisicamente ativos, após carga de exercícios aeróbicos.

### Amostra

A amostra foi composta por 18 indivíduos do sexo masculino, praticantes de atividades físicas diversas, divididos em 02(dois) grupos: G1, composto por 10 indivíduos, e G2, composto por 08(oito) indivíduos.

### Coleta de dados

A primeira etapa se constituiu da avaliação das medidas antropométricas, massa corporal, estatura e a realização do teste de 12 minutos de Cooper, o qual serviu de parâmetro para a seleção dos indivíduos que fariam parte da amostra. A segunda etapa foi a aplicação do teste de Léger-Boucher (1980) para classificar a amostra em dois grupos com relação ao  $VO_2$ máx. O G1 com  $VO_2$ máx  $46,24 \pm 2,71$  ml/kg.min e o G2 com  $VO_2$ máx  $61,99 \pm 2,25$  ml/kg.min. Na terceira etapa, os indivíduos foram submetidos a uma corrida contínua de 40 (quarenta) minutos a 67,5 % do  $VO_2$ máx. Foram analisadas amostras do plasma no pré e pós-exercício para se verificar os níveis de peroxidação lipídica, pelo método TBARS de Jain, e comparar os resultados intergrupos e intragrupos. A segunda e a terceira etapa foram realizadas na pista de atletismo na Escola de Educação Física do Exército (EsEFEx) - Rio de Janeiro - RJ.

### Medidas Antropométricas

Foram mensurados o peso corporal e a estatura. Estas medidas seguiram as seguintes padronizações:

**Massa Corporal:** Com o indivíduo em pé sobre a plataforma da balança, previamente tarada, registra-se o peso no nível do 0,1 Kg mais próximo (Lohman, 1988).

**Estatura:** O indivíduo em pé, na posição ortostática, mantendo as bordas mediais dos pés em um ângulo de 60°. A cabeça é mantida no plano horizontal de Frankfurt (Lohman, 1988).

### **Instrumentação**

**Balança:** Foi utilizada uma balança clínica da marca Filizola (Brasil), modelo Personal nº 3201/01 digital, para a determinação da massa corporal total. A precisão do equipamento é de 100 gramas e os pesos máximo e mínimo são, respectivamente, 180 kg e 0,1 kg.

**Estadiômetro:** Para aferição da estatura corporal, foi utilizado o estadiômetro da marca Filizola (Brasil), com escala de 80 a 200 cm e precisão de 0,1 cm.

**Trena métrica:** Para mensuração das distâncias verificadas nos testes de campo, foi utilizada uma trena em fibra de vidro flexível e inelástica da marca Stanley (Brasil), com escala de 0 a 50 metros e precisão de 0,1 cm.

**Bicicleta calibrada:** Para mensuração das distâncias verificadas nos testes de campo foi utilizada uma bicicleta calibrada, modelo RR3M Carded Compact Whell e marca Keson Road Runner (USA).

**Cronômetro:** Foi utilizado um cronômetro manual digital da marca Seiko Quartz Cal S120 e modelo Digital (Digital Stopwatch), com precisão de 1(um) por 100 segundos, para controlar o tempo de cada volta dos sujeitos, executado na pista de atletismo, durante os 40 minutos de corrida contínua.

**Termohigrômetro:** Foi utilizado um termômetro/higrômetro digital da marca Microzelle (Qualitäts-Erzuginis), modelo Thermo Kromel CR 203, para medir a umidade.

**Pista de atletismo:** Foi utilizada uma pista oficial de atletismo, ou seja, com 400 m de comprimento e com pavimentação sintética, sendo a corrida sempre realizada no sentido anti-horário.

**Apito:** Para a determinação dos momentos de partida, chegada e avisos diversos, nos testes de Léger-Boucher, foi utilizado um apito da marca FOX - 40.

### **Análise do plasma**

Foi realizada, com material esterilizado e descartável, no braço de cada indivíduo (10 minutos antes do teste de esforço e cinco minutos após o teste) diretamente em tubo a vácuo, marca BD Vacutainer K3 EDTA 5 (cinco)ml, com eparina. O sangue coletado foi centrifugado a 4000 RPM, em centrífuga da marca Nikan, e os plasmas sobrenadantes de cada indivíduo foram separados em seis ependorfes de 1000ml (três do pré-teste e três do pós-teste) e congelado a -70C°, para as posteriores dosagens da Peroxidação Lipídica, que foram realizadas pelo método TBARS de Jain (1988).

### **Diretrizes para a obtenção dos dados**

Para a obtenção dos dados, foram obedecidas as seguintes diretrizes:

1º) A coleta dos dados iniciou-se por volta das 16 h, no Laboratório da EsEFEx. A equipe responsável pela coleta foi constituída por dois técnicos laboratoriais, dois farmacêuticos, acompanhados de um professor de Educação Física.

2º) Cada sujeito foi identificado, sendo o registro das informações realizado com auxílio de fichas individualizadas. Em seguida, foi entregue um termo de consentimento para cada sujeito da amostra e solicitada autorização que fosse efetuada sua leitura. Posteriormente, cada sujeito ratificou seu controle através das assinaturas, autorizando a realização da coleta e futura publicação dos dados.

3º) Foi utilizado o teste de Léger-Boucher (1980) para separar a amostra quanto ao VO<sub>2</sub>máx. Os sujeitos foram divididos em dois grupos (G1 e G2) considerados abaixo da média e excelente, respectivamente (segundo o Canadian Standardized Test of Fitness - CSTF - Operations Manual). O G1

foi composto por dez indivíduos com idade de  $18,6 \pm 0,5$  anos, massa corporal de  $78,24 \pm 11,48$  Kg e estatura de  $1,79 \pm 0,05$  m, e o G2, composto por oito indivíduos com idade de  $26,13 \text{ anos} \pm 2,59$  anos, massa corporal de  $68,88 \pm 4,29$  Kg e estatura de  $1,76 \pm 0,05$  m.

4º) Os sujeitos foram orientados a não fazerem uma suplementação alimentar para a realização dos testes.

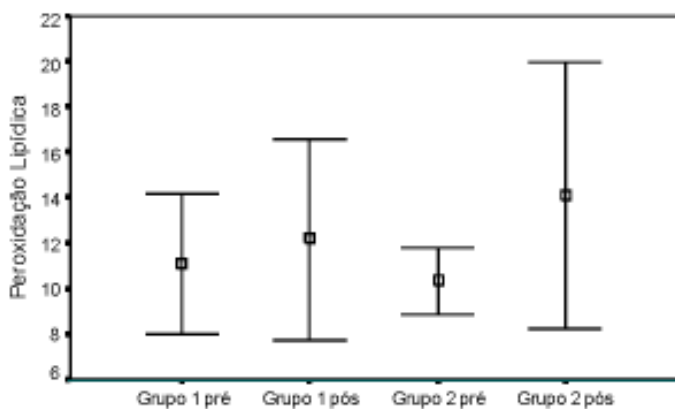
5º) A primeira coleta de sangue foi realizada dez minutos antes da corrida contínua de 40 minutos. E a segunda coleta foi realizada cinco minutos após a corrida contínua.

## RESULTADOS

As médias e os desvios padrões dos valores obtidos, referentes à PL pré e pós-teste do G1 e G2 submetidos a 40 minutos a 67,5% do  $VO_2$  máx de cada indivíduo estão representadas na FIGURA 1.

FIGURA 1

Média e desvio padrão dos resultados da PL, pré e pós 40 minutos de corrida contínua para o grupo 1 (abaixo da média) e grupo 2 (excelente)

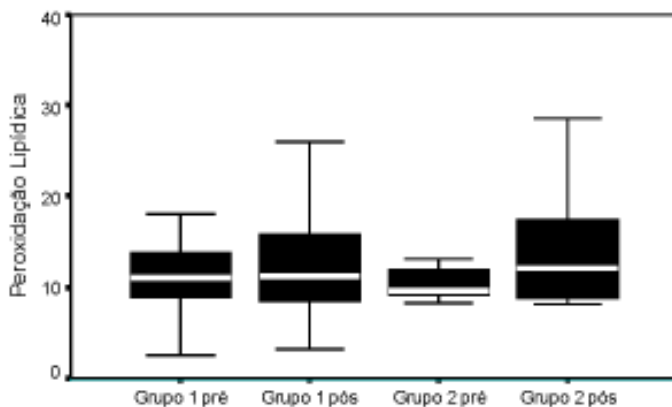


Obs.: Préoxidação Lipídica em grupos com diferentes níveis de condicionamento

Grupos por Condicionamento Aeróbico

FIGURA 2

Mediana e variância dos resultados da PL, pré e pós 40 minutos de corrida contínua para o grupo 1 (abaixo da média) e grupo 2 (excelente)



Obs.: Préoxidação Lipídica em grupos com diferentes níveis de condicionamento

Grupos por Condicionamento Aeróbico

De acordo com o teste de Kolmogorov Smirnov (K-S) constatou-se que a PL apresentou distribuição normal (G1 pré-exercício com  $z = 0,459$  para  $p = 0,984$ ; G2 pré-exercício com  $z = 0,700$  para  $p = 0,712$ ; G1 pós-exercício com  $z = 0,521$  para  $p = 0,949$  e G2 pós-exercício com  $z = 0,675$  para  $p = 0,752$ ). O teste de Levene verificou a homogeneidade das amostras, apresentando ( $p = 0,10$ ) para a PL. Foi utilizado o teste ANOVA "two way" o qual não apresentou diferença significativa entre os pré e pós-exercício, intragrupos e intergrupos ( $F = 1,2417$  para  $p = 0,28161$ ) para a variável PL.

## DISCUSSÃO

Apesar dos resultados mostrarem que, estatisticamente, não houve uma diferença significativa intergrupos e intragrupos, pode-se observar que o coeficiente angular da reta do G2 ( $VO_2$  máx excelente) é maior que o coeficiente angular da reta do G1 (indivíduos com  $VO_2$  máx abaixo da

média). Com isso, há uma indicação de que os sujeitos do G2 teriam um estresse oxidativo maior, mas, devido ao número de indivíduos da amostra ser pequena, obtivemos uma confiabilidade baixa. Contudo, ao utilizarmos uma quantidade maior, em torno de três ou quatro indivíduos, poderíamos provavelmente encontrar uma significância.

Além disso, pelo fato da diferença de estresse oxidativo não ser significativa poderíamos maximizar a diferença inicial do  $VO_2$ máx entre os grupos para que aumentássemos a diferença entre os coeficientes das retas e encontrássemos uma diferença significativa.

No organismo treinado, seja em situação de resistência ou não, há um maior status oxidativo na célula e, se existir uma deficiência dos antioxidantes, estes falham na missão de manter sob controle uma maior carga de radicais livres. Sob condições de hipersolicitação física, a geração aumentada de RLO sempre é uma condição de risco à célula, e, maior ainda, no organismo treinado, pois, neste, o estresse oxidativo pode obter uma expressividade mais intensa. (Signorini, Signorini, 1995).

Um estudo realizado por Tonkogoni et al., 2000 não demonstrou aumento na atividade de enzimas antioxidantes em indivíduos submetidos a um programa de treinamento de oito semanas, tendo tais indivíduos alcançado um aumento médio no  $VO_2$ máx de 24%. Em contrapartida, estudo realizado por Jekins et al., 1984 demonstrou uma correlação positiva na atividade enzimática antioxidante a nível muscular (SOD e catalase) com o  $VO_2$ máx.

Embora todos tivessem corrido segundo uma intensidade relativa de 67,5% do  $VO_2$ máx, os sujeitos do G2 tinham uma intensidade

absoluta maior, ou seja, os componentes do G2 corriam consumindo mais oxigênio que os do G1.

No esforço físico intenso, seja em organismos treinados ou não-treinados, a percentagem representativa da quantidade de oxigênio não reduzida pela citocromo-oxidase aumenta, na mesma proporção do aumento do volume global de  $O_2$  que é admitido por uma demanda maior da célula. (Signorini, Signorini, 1995).

Apesar das médias no pós-teste terem apresentado uma diferença numérica relativamente alta, a variância destes grupos também foi grande, tornando a diferença não significativa entre os grupos.

## CONCLUSÃO

Analisando os resultados deste estudo, pode-se concluir que não houve diferença significativa intergrupos e intragrupos para PL.

Apesar dos resultados não apresentarem diferença estatisticamente significativa, pode-se identificar, na FIGURA1, um aumento dos resultados entre pré e pós-teste, concluindo-se, salvo melhor juízo, que pode haver um maior estresse oxidativo nos sujeitos com  $VO_2$ máx considerado excelente.

Endereço para correspondência:  
Rafael Soares Pinheiro-DaCunha  
Av. João Luiz Alves s/nº (Forte São João)  
Urca - Rio de Janeiro (RJ) - BRASIL  
CEP 22291-090  
Tel: (21) 2543-3323  
e-mail: rafaelpinheiro@army.com

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNES BN, SHIGENAGA MK, HAGEN TM, Proc. Natl. Acad. Sci. 1993; USA 90: 7915 - 22.
- CHEESEMAN KH, SLATER TF. An introduction to free radical biochemistry. Br. Med. Bull. 1993;49:481-493.
- DAVIES KJ, QUINTANILHA AT, BROOKS GA, PACKER L. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1982;107: 1198 - 1205.
- EBBELING CB, CLARKSON PM. Muscle adaptation prior to recovery following eccentric exercise. Eur. J. Appl. Physiol 1974; 37:247-8.
- FIAMONCINI RL. Análise do estresse oxidativo em jogadores juniores de futebol: comparação entre pré e pós-exercício aeróbio e anaeróbio. UFSC, Programa de pós-graduação em engenharia de produção 2002.
- FOXLEY A, EDWARDS RHT, JACKSON MJ. Enhanced lipid peroxidation in Duchenne dystrophy muscle may be secondary to muscle damage. Biochem. Soc. Trans.1991; 19:180S.
- GUTERRIDGE JMC. Free Radical Res Commun 1993; 19: 141-158.
- GUYTON AC. Textbook of Medical Physiology. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1993.
- MASTALLOUDIS A, LEONARD SW, TRABER MG. Oxidative Stress in Athletes During Extreme Endurance Exercise, 2001.
- McARDLE WD, KATCH FL, KATCH VL. Fisiologia do exercício, energia, nutrição e desempenho humano. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- McBRIDE JM, KRAEMER WIJ, TRIPLETT-McBRIDE TRABVIS, SEBASTIANELLI W. Effect of resistance exercise on free radical production. Official Journal of the American College of Sports Medicine 1998;30:67-72.
- MEYDANE M, EVANS WJ, HANDELMAN G, BIDDLE L, FIELDING RA, MEYDANI SN, BURRIL J, FLATARONE MA, BLUMERG JB, CANNON, JG. American Journal Physiology 1993;264: 992 - 8.
- MOREIRA SB. Equacionando o treinamento: a matemática das provas longas. Rio de Janeiro: Shape, 1996.
- NOSAKA K, CLARCKSON PM, MCGUIGGIN ME, BYRNE JM. Time course of muscle adaptation after high force eccentric exercise. Eur. J. Appl. Physiol 1991; 63: 70-6.
- POLI GE, ALBANO EP, BIASI F, CARINI R et al. Medical Biochemical and Chemical Aspects of Free Radicals, Hayashi (Ed.). Amsterdam: Elsevier Science Publishing 1989; 931-936.
- ROKITZKI L, LOGEMANN E, SARGEDOS AN, MURPHY M, WETZEL ROTH W, KEUL J. Acta Physiol 1994; 151: 149 - 158.
- SIGNORINI JL, SIGNORINI SL. Atividade Física e Radicais Livres: aspectos biológicos, químicos, fisiopatológicos e preventivos. São Paulo: Editora Ícone, 1995.
- SIES H, STAHL W, SUNDQUISTAR. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1992;669:7 - 20.
- SJODIN B, WESTING YH, APPLE FS. Sport Med.1990; 10: 236 - 54.