



Exercício físico e estresse oxidativo

Efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático

Tácito Pessoa de Souza Jr.¹, Paulo Roberto de Oliveira² e Benedito Pereira³

RESUMO

Estudos têm demonstrado que o exercício físico intenso provoca estresse oxidativo em animais e humanos, estando possivelmente relacionado, por exemplo, com fadiga e lesões teciduais. Por outro lado, poucos estudos relatam a sua ocorrência em atletas sob treinamento intenso, principalmente devido a problemas metodológicos. O presente estudo teve como objetivo, portanto, estudar em atletas a possível ocorrência de lesões oxidativas em lipídeos em decorrência do exercício físico ou do treinamento através da quantificação da quimioluminescência urinária e malondialdeído (MDA) plasmático. Os exercícios utilizados foram: a) corrida na esteira rolante (25-30min), com a quantificação de ambos os parâmetros e da capacidade antioxidante plasmática total; b) corrida de 20km realizada por maratonistas; c) treinamento intervalado intenso realizado por corredores de 400m rasos; d) jogo de futebol com 50min de duração; e e) treinamento de força/musculação com e sem suplementação com creatina. Nos quatro últimos itens, somente a quimioluminescência urinária foi avaliada. As condições em que se notou elevação significativa na quimioluminescência urinária após a realização do exercício são: a) corrida de 20km; b) jogo de futebol; e c) treinamento de força/musculação sem suplementação com creatina. A corrida na esteira promoveu aumento na concentração plasmática de MDA durante e após a sua realização; a capacidade antioxidante plasmática total modificou-se de forma inversamente proporcional ao aumento no MDA. Os exercícios praticados pelos atletas neste trabalho provocaram estresse oxidativo de maneira diferente, estando possivelmente relacionado com a duração e a intensidade dos mesmos, e não somente com a intensidade. Neste trabalho também se constatou que o consumo de creatina associado ao treinamento de força/musculação pode atuar como antioxidante.

RESUMEN

Ejercicio físico y estrés oxidativo. Efectos del ejercicio físico intenso sobre la quimioluminescencia urinaria y el malondialdeído plasmático

Estudios tienen demostrado que el ejercicio físico intenso provoca estrés oxidativo en animales y humanos, estando posiblemente relacionado, por ejemplo, con fatiga y lesiones tendinosas. Por otro lado, pocos estudios relatan a su hallazgos en atletas bajo entrenamiento intenso, principalmente debido a problemas meto-

1. Professor Mestre. Faculdade de Educação Física de Santos – Fefis-Unimes, Doutorando pela Faculdade de Educação Física – Unicamp.
2. Professor Doutor. Faculdade de Educação Física – Unicamp.
3. Professor Doutor. Departamento de Esporte, Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo.

Recebido em 22/3/04. 2ª versão recebida em 24/11/04. Aceito em 30/1/05.

Endereço para correspondência: Prof. Dr. Benedito Pereira, Departamento de Esporte, Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Mello Moraes, 65, Butantã – 05508-900 – São Paulo, SP. E-mail: benepe@usp.br

Palavras-chave: Exercício físico. Estresse oxidativo. Metabolismo. Espécies reativas de oxigênio.

Palabras-clave: Ejercicio físico. Estrés oxidativo. Metabolismo. Especies reactivas de oxígeno.

dológicos. El presente estudio tiene como objetivo, por tanto, estudiar en atletas la posible ocurrencia de lesiones oxidativas en lípidos en disminución del ejercicio físico o de entrenamiento a través de la cuantificación de la quimioluminescencia urinaria y del malondialdeído (MDA) plasmático. Los ejercicios utilizados fueron: a) carrera en cinta rodante (25-30 min), con la cuantificación de ambos parámetros y de la capacidad antioxidante plasmática total; b) carrera de 20 km realizada por maratonistas; c) entrenamiento intervalado intenso realizado por corredores de 400 m planos; d) juego de fútbol con 50 min de duración y; e) entrenamiento de fuerza / musculación con y sin suplementación con creatina. Los cuatro últimos ítems, solamente la quimioluminescencia urinaria fue evaluada. Las condiciones en que se notó elevación significativa de la quimioluminescencia urinaria después de la realización del ejercicio son: a) carrera de 20 kms; b) juego de futbol y; c) entrenamiento de fuerza / musculación sin suplementación con creatina. La carrera en la cinta promovió un aumento en la concentración plasmática de MDA durante y después su realización, siendo que la capacidad antioxidante plasmática total se modificó de forma inversamente proporcional al aumento del MDA. Los ejercicios practicados por los atletas en este trabajo provocaran estrés oxidativo de manera diferente, estando posiblemente relacionado con la duración y la intensidad de los mismos, y no solamente con la intensidad. En este trabajo también se constató que el consumo de creatina asociado al entrenamiento de fuerza / musculación puede actuar como antioxidante.

INTRODUÇÃO

Estudos sobre estresse oxidativo realizados com animais experimentais e seres humanos demonstraram que o aumento na atividade metabólica favorece a ocorrência de lesões oxidativas em biomoléculas⁽¹⁻⁵⁾. Como o treinamento esportivo e a competição elevam acentuadamente a atividade metabólica celular, essas lesões podem assumir dimensões ainda maiores nessas condições^(6,7). Estresse oxidativo envolve aumento na formação de ânion superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxil (HO^{*}), dentre outros, genericamente denominados de espécies reativas de O₂ (EROs), em detrimento das defesas antioxidantes químicas e enzimáticas disponíveis⁽⁸⁾. Existem evidências de que o óxido nítrico (NO) e derivados oxidantes (espécies reativas de nitrogênio, ERNs) são elevados no organismo durante o exercício físico. Contudo, como existem poucos estudos sobre os efeitos do exercício físico na formação de ERNs, o mesmo não será mais comentado neste trabalho.

Pode-se dizer, portanto, que a atividade física intensa pode aumentar a formação intracelular de EROs e promover estresse oxidativo. Contudo, existem poucos trabalhos com humanos sobre

esse problema porque muitos procedimentos disponíveis para quantificar lesões oxidativas em biomoléculas são invasivos e de difícil aplicação nos mesmos, principalmente os que envolvem biópsia muscular. Em função disso, resolveu-se neste trabalho estudar em atletas envolvidos em diferentes atividades físicas intensas (jogo de futebol com 50min de duração, corredores de maratona, corredores de 400m rasos e treinamento de força/musculação com e sem suplementação com creatina) os efeitos agudos e crônicos do exercício físico na quimioluminescência urinária. Em paralelo, jogadores de futebol foram submetidos à corrida em esteira rolante em que se quantificou, além da quimioluminescência urinária, a capacidade antioxidante plasmática total e concentração de malondialdeído (MDA). Como será explicado abaixo, tanto a quimioluminescência urinária como o MDA plasmático são considerados indicadores de lesões oxidativas em lipídeos corporais (peroxidação lipídica).

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos realizados foram aprovados pelo comitê de ética do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo e todos consentiram por escrito a realização dos procedimentos experimentais (esforço físico empreendido, coletas de amostras, etc.). Realçamos que os atletas participantes dos experimentos neste trabalho não são fumantes ou consumidores de drogas proibidas pelo Comitê Olímpico Internacional. Esse fato foi verificado através de consulta pessoal aos atletas.

Quimioluminescência urinária

A ação oxidativa de EROs sobre lipídeos, principalmente sobre os de membranas biológicas, promove formação de hidroperóxidos que podem ser ciclizados, gerando compostos heterocíclicos denominados dioxetanos. Esses compostos podem sofrer clivagem térmica produzindo carbonilas em estado excitado (singlete ou triplete, dependendo dos substituintes no anel dioxetanônico). O decaimento dessas carbonilas para o estado fundamental com a emissão dessa energia na forma de fótons é o principal fator responsável pela quimioluminescência observada na urina. A intensidade luminescente é, portanto, proporcional à concentração de carbonilas excitadas e reflete a extensão do processo de peroxidação lipídica tecidual.

A urina foi coletada neste trabalho antes e após a realização do exercício; após o término da corrida na esteira rolante também foram efetuadas duas coletas: uma imediatamente após e outra após três horas. A urina foi mantida congelada até a sua análise, sendo centrifugada a 10.000g por 10min em temperatura ambiente posteriormente ao descongelamento. As medidas foram realizadas usando 3mL de urina suplementada com 1mL de fosfato de sódio, 0,1M, no pH 6,2. A creatinina foi medida por procedimento descrito por Heinegard e Tinderstrom⁽⁹⁾ e seu valor utilizado para corrigir a diluição das amostras. Uma medida prévia da absorvância da amostra de urina é necessária para evitar absorção luminosa excessiva que pode interferir na quantificação da luminescência. Neste trabalho, sempre que a absorvância da amostra centrifugada apresentou valor superior a 0,3, foi diluída com água Milli Q até esse limite. O método foi originalmente descrito por Lissi *et al.*⁽¹⁰⁾ e a intensidade luminescente foi medida em cintilador líquido.

Malondialdeído (MDA)

Aldeídos são freqüentemente produzidos quando lipoperóxidos são metabolizados por organismos aeróbios. Sua identificação fornece índice indireto de injúria oxidativa resultante de peroxidação lipídica. O MDA é um dos aldeídos mais abundantes resultantes da peroxidação lipídica tecidual, principalmente de ácido araquidônico (20:4), eicosapentaenóico (20:5) e docosahexaenóico (22:6). O procedimento adotado para a quantificação de MDA por fluorescência foi o de Yagi⁽¹¹⁾, em que se mede a concentração plasmática

de MDA através da excitação da amostra em 515nm e quantificação em 553nm. A quantidade de MDA foi expressa em nmol por mL de plasma. A sensibilidade do procedimento permite a utilização do volume de 50µL de amostras de sangue retirados do lóbulo da orelha. Como essas medidas concorriam com a determinação do lactato em sangue obtido no mesmo local, optou-se por coleta de amostra em vaso sanguíneo na região cubital do antebraço, em que se retiraram, em cada coleta, aproximadamente 5,0mL de sangue, obtendo-se 1,0mL de plasma após centrifugação refrigerada. Foram utilizados 0,5mL de plasma neste experimento e 0,5mL na dosagem da capacidade antioxidante plasmática total.

Capacidade antioxidante total

A capacidade antioxidante plasmática foi determinada pelo método de Whitehead⁽¹²⁾, utilizando técnica de quimioluminescência para medir a capacidade antioxidante de fluidos biológicos. A emissão de luz ocorre quando o substrato quimioluminescente (luminol) é oxidado pelo H₂O₂ em reação catalisada por *horseradish peroxidase*. As estabilidades e intensidades da luz emitida são elevadas pela adição de *p*-iodofenol; sua emissão contínua depende da produção constante de radicais livres intermediários derivados do *p*-iodofenol, luminol e O₂. Por essa razão, a emissão de luz é sensível aos antioxidantes presentes, mas pode ser restabelecida quando os mesmos são consumidos na reação. Como a geração de radicais livres intermediários é constante, o período de supressão da luz é diretamente relacionado com a quantidade de antioxidante presente na amostra. O ensaio é sensível para medir a capacidade antioxidante de amostras biológicas e é expressa relativamente ao ácido carboxílico 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2 (trolox), análogo solúvel da vitamina E. O resultado é expresso como equivalente de trolox por litro de amostra.

Exercício simulado de futebol e treinamento de força – O jogo de futebol envolveu dois grupos de 12 jogadores alunos de graduação da Escola de Educação Física e Esporte-USP, utilizando todo o espaço do campo, mas a coleta de amostras foi feita em somente 10 alunos. A duração foi de 50min e o treinamento de força constou de arranco e arremesso; o objetivo durante todo o período de treinamento (três vezes por semana por três meses) foi o de elevar o valor da força máxima nos respectivos exercícios empregados. Após duas semanas de aprendizado, o treinamento de força utilizou sempre carga próxima da máxima (80-90% de 1RM) com poucas repetições sem intervalo (6-8 séries com 3-6 repetições com 3-5min de intervalo entre as séries).

Treinamento de maratonistas e corredores de 400m rasos – Os atletas especialistas em maratona correram 20km (freqüência cardíaca de 180-185 batimentos por min) como parte de seu treinamento diário, que representa o período de preparação física geral em que o maior objetivo visado é o trabalho em grandes volumes de treinamento semanal. O grupo de corredores de 400m rasos realizou uma sessão diária de treinamento com exercícios específicos para o desenvolvimento da potência anaeróbia (treino intervalado), correspondente ao também período de preparação física geral. A parte principal do treinamento constou de uma sessão de 3 x 4 séries de 300m rasos, com pausas de 3min entre cada exercício e de 5min entre cada série. O ritmo solicitado foi de 36-38 segundos em cada exercício, sendo o exercício intervalado realizado em pista de atletismo com 400m e a corrida de 20km, no campus da Universidade de São Paulo.

Treino de musculação e suplementação com creatina – Dezoito alunos do curso de Educação Física da Faculdade de Santos foram divididos em dois grupos de nove, grupos A e B, que já possuíam experiência prática de aproximadamente um ano com exercícios tipicamente utilizados em academias de ginástica. Os mesmos foram submetidos previamente ao treino de hipertrofia muscular em bateria de testes e entraram nas semanas um e dois de preparação. Após esse período entraram nas semanas de treino de hipertrofia. Utilizou-se na suplementação com creatina mo-

noidratada (CrH₂O) o protocolo de Volek *et al.*⁽¹³⁾ modificado por Souza Jr.⁽¹⁴⁾.

Após testes de 1 RM, medidas antropométricas e as duas primeiras semanas preparatórias, os indivíduos consumiram 30g de CrH₂O por dia, divididos em seis doses iguais de 5g, em intervalos de três e quatro horas, perfazendo um total de 30g diários na primeira semana de suplementação (30g/dia por 7 dias, 210g no total) ou placebo (maltodextrina), correspondente à terceira semana de treinamento. Após o período de consumo inicial, os grupos receberam uma quantidade de manutenção de 5g/dia por 42 dias, 210g no total, correspondente às cinco últimas semanas de treinamento.

A CrH₂O foi cedida pela *Protech Systems* do Brasil, enquanto que a substância placebo (maltodextrina) foi adquirida em um estabelecimento comercial do ramo de suplementos nutricionais. As substâncias foram encapsuladas por Pedrosa & Delsin – Farmácia de Manipulação Ltda., CGC 00243338/0001-74. Tanto a CrH₂O como a maltodextrina foram igualmente acondicionadas em cápsulas contendo 0,5g para evitar que os participantes do estudo soubessem quem estaria ingerindo creatina. Para esse experimento, o protocolo de treinamento utilizado foi o proposto por Souza Jr.⁽¹⁴⁾, que foi aplicado durante oito semanas. As duas primeiras semanas (fase A) foram utilizadas para ajustes neuromusculares dos voluntários e as seis semanas subseqüentes (fase B) visaram aumentar a resultante da força muscular máxima e massa muscular (hipertrofia).

A semana preparatória (fase A) consistiu de exercícios realizados com 50% de 1 RM, com pausas de 120 segundos entre os mesmos. O treinamento de hipertrofia (fase B) consistiu de utilização de 80% da carga máxima, tomando como referência o teste de 1 RM, quatro séries de 8-10 repetições com 120 segundos de pausas entre as séries e de 120 segundos entre os exercícios para outro agrupamento muscular. A suplementação com creatina e placebo teve início na terceira semana, juntamente com o início do treinamento de hipertrofia.

O protocolo de treinamento consistiu na divisão dos agrupamentos musculares e dos exercícios para os respectivos grupos, bem como os dias específicos de treino. Nas duas primeiras semanas, os voluntários executaram três séries com 12 repetições em todos os exercícios propostos, com alteração apenas para os exercícios abdominais, que foram realizados duas vezes por semana com cinco séries de 20 repetições em cada série, e com 50% de 1RM. Para mais detalhes sobre o procedimento de treinamento adotado neste experimento, consultar Souza Jr.⁽¹⁴⁾.

Exercício na esteira rolante – O estudo realizado na esteira rolante motorizada foi efetuado segundo protocolo desenvolvido especialmente para avaliar a capacidade anaeróbia máxima do atleta (*Mart test = maximal anaerobic running test*)⁽¹⁵⁾. A intensidade foi aumentada progressivamente conforme a capacidade do atleta em suportar o esforço físico imposto até próximo à exaustão, que ficou entre 25 e 30min.

Os atletas foram submetidos ao teste em esteira rolante com determinação paralela do consumo de O₂, frequência cardíaca, quociente respiratório e lactato sanguíneo. As frequências de coleta das amostras de sangue para dosagens de lactato e demais parâmetros encontram-se descritas nas tabelas 1 e 2. O sangue para dosagem de lactato foi colhido do lóbulos da orelha esquerda, com auxílio de capilares heparinizados, que comportam 25µL de sangue. As determinações plasmáticas de MDA e capacidade antioxidante foram realizadas em plasma obtido conforme descrito acima, de sangue colhido na região cubital do antebraço nos mesmos intervalos de tempo. Para essas coletas utilizaram-se seringas descartáveis heparinizadas, com descarte de amostras hemolisadas. Os resultados individuais foram comparados com o repouso. Ou seja, os atletas foram o seu próprio controle para os parâmetros analisados.

TABELA 1
Parâmetros sanguíneos e respiratórios de atletas (n = 10) indicadores de intensidade de exercício físico realizado na esteira rolante

Lactato plasmático (mmol/L)	Quociente respiratório	Tempo (min) de exercício (frequência de coleta das amostras)
0,89 ± 0,07	0,86 ± 0,06	(repouso)
2,24 ± 0,11	1,23 ± 0,09	3
2,54 ± 0,10	1,34 ± 0,09	6
3,02 ± 0,12	1,40 ± 0,08	9
5,45 ± 0,17	1,47 ± 0,07	12
9,79 ± 0,20	1,52 ± 0,08	23
9,90 ± 0,18	1,57 ± 0,09	26

Todos os resultados comparados com o repouso são significativamente maiores (p < 0,01). Os resultados estão expressos como média ± desvio-padrão.

TABELA 2
Parâmetros sanguíneos e urinários de atletas (n = 10) indicadores de lesões oxidativas em lipídeos corporais durante e após a realização de exercício físico na esteira rolante

Quimioluminescência urinária (cpm/mg de creatinina)	MDA (nmol/mL de plasma)	Capacidade antioxidante plasmática (µmol de trolox – Eq/L)	Tempo (min) de exercício
910,0 ± 10,0	0,21 ± 0,012	483 ± 88	(repouso)
	0,23 ± 0,013	470 ± 65	3
	0,28 ± 0,011* (↑ 33%)	465 ± 50	6
	0,19 ± 0,011	650 ± 90* (↑ 34%)	9
	0,16 ± 0,012* (↓ 24%)	655 ± 88* (↑ 36%)	12
	1,5 ± 0,009* (↑ 714%)	233 ± 12* (↓ 52%)	23
895,8 ± 9	1,6 ± 0,013* (↑ 761%)	200 ± 14* (↓ 59%)	26
657,8 ± 8* (↓28%)			3h após

* p < 0,01, comparado com o repouso.

MDA = malondialdeído; cpm = contagem por min.

Os resultados estão expressos como média ± desvio-padrão. ↑ aumento; ↓ queda.

Foi utilizada esteira rolante motorizada especial para avaliar seres humanos modelo *Quinton 65*, Quinton Instruments, Seattle-WA; para o exame do lactato foi empregado o analisador automatizado (modelo *2300 stat plus*, Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, OH). O sistema de análise metabólica utilizado no estudo do quociente respiratório foi o *Teen-100* – Aeroesport Inc., EUA, todos do Ladesp (Laboratório de Desempenho Esportivo do Departamento de Esporte da Universidade de São Paulo). O fluorímetro empregado na análise de MDA e capacidade antioxidante plasmática total foi o *Yellow Springs Model YSI 53* (Laboratório de Bioquímica do Departamento de Bioquímica, IQ-USP) e o contador de cintilação utilizado foi o sistema *Tri-carb* da Packard (do Departamento de Histologia, ICB-USP). Todos os reagentes foram obtidos da Sigma e Merck. A análise estatística utilizou o teste *t* de Student para médias não pareadas após análise de variância *two way*.

RESULTADOS

Os dados referentes aos efeitos do exercício realizado na esteira rolante sobre parâmetros utilizados com o objetivo de monitorar a sua intensidade estão descritos na tabela 1. Pode-se notar a partir de suas análises que o exercício físico foi efetivo em promover grande exigência física em função da concentração de lactato obtida no final do teste, assim como o valor do quociente respiratório. Todos os resultados comparados com o repouso na tabela 1 são significativamente maiores (p < 0,01). Os dados referentes aos efeitos do exercício sobre a quimioluminescência urinária estão descritos na tabela 2. Pode-se notar nessa tabela que o único efeito significativo obtido para esse parâmetro foi o de redução (28%) três horas após o término do exercício.

Na tabela 2 observa-se aumento significativo no MDA plasmático, principalmente aos 6min (33%), 23min (714%) e 26min (761%) de exercício físico. Verifica-se, também, nesse experimento, que o MDA plasmático foi reduzido entre os tempos 9 e 12min, sendo significativamente menor (24%) aos 12min de corrida. A capacidade antioxidante plasmática total (tabela 2) aumentou significativamente aos nove (34%) e aos 12min (36%) de exercício, enquanto que foi reduzida significativamente aos 23 (52%) e 26min (59%) de exercício.

Os resultados obtidos com o grupo de maratonistas estão descritos na tabela 3. Para esse grupo, obtiveram-se tanto os resultados pré-treino (31,5%) como os pós-treino (41,5%) significativamente superiores aos do grupo de sedentários. No grupo de corredores de 400m rasos (tabela 3) não foi encontrada diferença significativa na quimioluminescência urinária, tanto no pré como pós-treino, na comparação com o grupo de sedentários. Na verdade, verifica-se certa tendência de redução desse parâmetro nesse grupo relativamente aos sedentários.

TABELA 3
Quimioluminescência urinária (cpm/mg de creatinina) de atletas antes e após a realização de exercício físico e treinamento intenso

Grupos	Antes	Depois
Sedentários	926 ± 39	-
Maratonistas	1.352 ± 23 (↑ 31,5%)*	1.582,0 ± 69 (↑ 41,5%)*
Corredores de 400m	900,0 ± 97	890,0 ± 97
Futebol (1)	965,5 ± 34	1.465,0 ± 37 (↑ 58%)* (↑ 52%)*
Futebol (2)	955,5 ± 30	1.640,4 ± 26 (↑ 77%)* (↑ 71%)*
Treino de força (1)	955,0 ± 29	1.630,0 ± 23 (76%)* (71%)*
Treino de força (2)	956,5 ± 28	1.135,4 ± 20 (↓ 43%)**

Comparado com sedentários p < 0,01.

* Depois comparado com antes p < 0,01.

** Treino de força 2 (depois) comparado com treino de força 1 (depois); p < 0,01.

Os resultados estão expressos como média ± desvio-padrão. Corredores de maratona: foram analisadas 284 amostras em 10 atletas após correrem 20km na frequência cardíaca de 180-185 bat/min. Corredores de 400m rasos: 10 atletas e 10 sedentários, todos do sexo masculino (média de 24 análises em cada grupo). Futebol (1): partida de futebol simulada de 50min (média de 24 análises de 10 jogadores); Futebol (2): treino de força de jogadores de futebol (média de 24 análises de 10 jogadores). Treino de força (1): antes e após com placebo; treino de força (2): antes e após com creatina, com nove alunos em cada grupo. ↓ queda; ↑ aumento.

Os resultados obtidos de jogadores de futebol (tabela 3) em jogo simulado com 50min de duração revelam que nesta condição o exercício físico pode elevar significativamente a quimioluminescência urinária, comparado com o repouso (52%) e com sedentários (58%). Ou seja, apesar de se constatar no teste de esforço físico máximo na esteira que a quimioluminescência urinária não aumenta significativamente após o teste, é possível que após o jogo de futebol isso ocorra. O mesmo se observa no período de treinamento de força dos mesmos atletas (tabela 3), em que se observou aumento significativo na quimioluminescência urinária desses indivíduos de forma muito acentuada, comparado com sedentários (77%) e o repouso (71%).

Nos estudos realizados com treinamento de força/hipertrofia associado ao consumo de creatina (tabela 3) como suplemento energético, os resultados sugerem a existência de efeitos protetores dessa substância sobre a quimioluminescência urinária. De fato, verificou-se que, comparativamente ao grupo treinado suplementado com placebo, que a quimioluminescência urinária é significativamente menor (43%) no grupo tratado com creatina.

DISCUSSÃO

A intensidade e a duração do exercício são fatores determinantes do tipo de substrato energético utilizado. No caso do exercício realizado na esteira rolante (tabela 1), que foi conduzido até a exaustão dos atletas, o principal substrato energético utilizado foi o gli-

cogênio muscular. Essa conclusão baseia-se no fato de que tanto o lactato plasmático como o quociente respiratório aumentaram significativamente na comparação com valores pré-exercício. Portanto, essa forma de exercício caracteriza-se por ser de alta intensidade. Nessa condição, verificou-se diminuição na concentração plasmática de MDA (tabela 2) após o começo do exercício e queda na quimioluminescência urinária (tabela 2) durante e após a sua realização; esses efeitos podem refletir a presença de capacidade antioxidante suficiente para proteger o organismo nos momentos iniciais do exercício físico realizado, mas não após esta fase.

De fato, constata-se diminuição no MDA plasmático no início do exercício em consonância com presença de alto teor de antioxidante plasmático (tabela 2). Por outro lado, a elevação no MDA plasmático após 12min de exercício ocorre em paralelo à queda na sua capacidade antioxidante total. Ressalta-se que a alta concentração plasmática de lactato detectada no sangue dos indivíduos nesta forma de exercício é propícia à capacidade antioxidante plasmática, porque já se verificou que o mesmo possui propriedades antioxidantes^(1,7). Mesmo assim, pode-se dizer que a elevação no plasma de produtos de peroxidação lipídica durante o exercício físico intenso prolongado pode retratar falta de capacidade do organismo em suportar o estresse oxidativo contínuo por longo tempo.

Os valores de quimioluminescência urinária reduzidos detectados após o término do exercício apóiam a afirmação anterior quanto ao organismo possuir capacidade antioxidante suficiente para se proteger no início do exercício, mas não concorda com o alto teor de MDA detectado após os 12min de exercício. De fato, apesar de a queda na quimioluminescência urinária (tabela 2) imediatamente após o exercício não ter sido significativa, isso se torna mais evidente quando se verifica que esse parâmetro apresenta queda ainda maior três horas após o seu término. Portanto, é possível que órgãos presentes na região esplênica possam ter capacidade antioxidante suficiente para se proteger contra os efeitos do exercício sobre os seus sistemas de produção de EROs, o que pode refletir-se no menor índice de quimioluminescência detectada na urina⁽¹⁵⁾.

Lipoperóxidos podem ser transferidos de um órgão ou tecido para outro e ser metabolizados por aqueles com alta capacidade oxidante⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Isso é particularmente importante durante o exercício intenso porque a região esplênica tem seu fluxo sanguíneo grandemente diminuído nessa condição, enquanto é aumentado nos músculos esqueléticos. Assim, além da possibilidade de lipoperóxidos serem metabolizados por órgãos na região esplênica, fatores hemodinâmicos podem dificultar o transporte dos mesmos para essa região, elevando suas concentrações no plasma e demais tecidos onde os lipoperóxidos são produzidos durante o exercício físico intenso. Essas afirmações apóiam-se em dados obtidos por Maughan *et al.*⁽¹⁹⁾, que demonstraram que lipoperóxidos possuem suas concentrações aumentadas no plasma até seis horas após o exercício intenso semelhante ao realizado neste trabalho. Portanto, devido à recuperação do fluxo sanguíneo renal nesse tempo, faz-se necessária a avaliação da quimioluminescência urinária dos atletas submetidos ao exercício intenso num tempo ainda maior do que o utilizado neste trabalho.

Apesar das afirmações feitas anteriormente sobre o exercício em esteira realizado por atletas, verifica-se na tabela 3 elevação na quimioluminescência urinária em jogadores de futebol após realização de uma única sessão de treinamento em jogo simulado (50min), assim como na quimioluminescência urinária após as sessões de treinamento de força na fase de preparação física geral dos mesmos (tabela 3). A medida de quimioluminescência urinária ocorreu antes e após uma única sessão de treinamento; o treinamento não exerceu efeito supressor na quimioluminescência urinária, que se manteve elevada durante todo esse período, provavelmente porque o objetivo era elevar a força máxima dos jogadores. Ou seja, esse tipo de treinamento físico não deve ter propiciado efeito significativo em estimular as defesas antioxidan-

tes de forma a proteger o organismo do atleta durante o período de treinamento.

O exercício físico intenso de média duração utilizado nesse experimento, assim como a maratona e ultramaratona^(20,21), promove aumento no MDA plasmático, mas não se conhece o efeito do exercício prolongado sobre a quimioluminescência urinária. Com efeito, além do MDA plasmático elevado detectado pelo grupo de Kanter *et al.*^(20,21) em estudos envolvendo ultramaratonistas, atletas especialistas em maratona apresentam quimioluminescência urinária aumentada após o treinamento com exercício físico intenso (tabela 3). Os dados apresentados na tabela 3 sugerem que atividades físicas intensas de longa duração, praticadas por humanos, promovem mais estresse oxidativo do que atividades de curta e média duração realizadas em alta intensidade. Além disso, os dados mostram que o treinamento físico diário não desenvolve a capacidade antioxidante de atletas especialistas em maratona de forma a protegê-los de lesões oxidativas por EROs, principalmente quando comparamos os seus resultados de quimioluminescência urinária pré-treino com os do grupo de sedentários e velocistas (tabela 3).

Estudos com corredores de maratona e ultramaratona, como os realizados por Kanter *et al.*^(20,21), encontraram nesses corredores no repouso correlação significativa entre as concentrações plasmáticas de lipoperoxídeos e as enzimas creatina quinase e lactato desidrogenase muscular (LDH-M). Esse mesmo grupo observou que as concentrações de lipoperoxídeos e a atividade destas enzimas aumentam no plasma após 50 milhas de corrida. Em função desse aumento no plasma obtido para essas enzimas após a corrida, os pesquisadores concluíram que houve lesão oxidativa nas fibras musculares desses indivíduos durante o exercício. Assim, tanto o MDA plasmático aumentado, como sugerem os trabalhos de Kanter *et al.*, como a quimioluminescência elevada detectada na urina, no presente trabalho, podem indicar ocorrência de danos oxidativos nos tecidos de indivíduos que se exercitam em atividades prolongadas intensas, mostrando a necessidade de suplementação dietética com antioxidantes químicos para esses indivíduos.

Com relação ao treinamento de força e estresse oxidativo, encontram-se poucos estudos disponíveis. Em um deles foi constatado que, quando a contração isométrica predomina no treino de força, ocorrem lesões oxidativas em biomoléculas demonstradas com mensurações sanguíneas de lipoperoxídeos⁽²²⁾. Assim, é possível que o treinamento de força também induza estresse oxidativo. Além disso, verifica-se, nos estudos realizados com treinamento de força associado ao consumo de creatina como suplemento energético (tabela 3), que a menor quimioluminescência urinária detectada nesses indivíduos sugere a existência de efeitos protetores antioxidantes dessa substância. Isso provavelmente porque a creatina consumida concomitantemente ao treino de força pode manter por mais tempo os valores de ATP intramusculares sem favorecer a maior ativação do ciclo de degradação de purinas, principal processo catabólico independente de O₂ responsável pela produção intramuscular de EROs⁽²³⁾.

Existem poucos dados sobre a quantificação de indicadores metabólicos da ativação do ciclo de degradação de purinas no exercício físico intenso associado ao consumo de creatina. Portanto, mais experimentos são necessários para avaliar se essa hipótese é plausível. Entretanto, foi constatado que o rendimento físico é elevado durante repetidas sessões de exercício máximo associadas à ingestão de 20g/dia por 5-7 dias de creatina⁽²³⁾. Além disso, verificou-se queda tanto na amônia como na hipoxantina durante o exercício intenso precedido do consumo de creatina⁽²⁴⁾. Embora o efeito da suplementação com creatina e estresse oxidativo durante o exercício intenso não tenha sido ainda estudado de forma sistemática, como afirmado acima, é possível especular que a menor produção de hipoxantina em decorrência desse procedimento pode reduzir o seu catabolismo em xantina e urato, com menor produção paralela de O₂•, H₂O₂ e HO•. Portanto, é possível que o consu-

mo adicional de creatina previamente à realização do exercício intenso, efetuado em curto espaço de tempo envolvendo contrações musculares vigorosas, possa atuar como antioxidante.

CONCLUSÃO

A corrida em esteira rolante por humanos mostra que a atividade física de média duração (20-30min) realizada em alta intensidade, ao contrário da de curta (treino de força) e de longa duração (corrida de 20km e 50min de futebol), reduz a quimioluminescência urinária. O primeiro tipo de exercício, por outro lado, aumenta a concentração plasmática de MDA. Portanto, o exercício intenso estimula o estresse oxidativo em humanos de forma diferente, dependendo da sua duração. Apesar de o treinamento de força/hipertrofia elevar os valores urinários de quimioluminescência, o consumo de creatina associado a essa forma de treinamento pode ser benéfico na proteção antioxidante.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Etelvino José Henriques Bechara (IQ-USP) pela disponibilização do laboratório de bioquímica em que a maior parte das análises foi realizada e pelas sugestões na redação do texto. Aos Professores Marília Seelaender e Luiz Fernando Bicudo, Departamento de Histologia (ICB-USP), por permitirem a utilização do equipamento para análise da quimioluminescência urinária (contador de cintilação). Aos Professores Marcelo, Valéria e Edson, do Ladesp, pela realização dos testes na esteira rolante e colaboração na coleta das amostras de sangue para a dosagem de lactato e medidas do quociente respiratório. Aos alunos de graduação em Educação Física e Esporte, que colaboraram participando direta e indiretamente dos experimentos realizados neste trabalho.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. Jenkins RR. Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am J Clin Nutr* 2000;72:670-4.
2. Poldoroi MC, Mecocci P, Cherubini A, Senin U. Physical activity and oxidative stress during aging. *Int J Sports Med* 2000;21:154-7.
3. Goldfarb AH. Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. *Can J Appl Physiol* 1999;24:249-66.
4. Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, et al. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centered radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol* 1998;77:498-502.
5. Benzi G. Aerobic performance and oxygen free radicals. *J Sports Med Phys Fitness* 1993;33:205-22.
6. Powers SK, Ji LL, Leewenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exer* 1999;31:987-97.
7. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;222:283-92.
8. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radical in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: University Press, 1999.
9. Heinegard D, Tanderstrom G. Determination of serum creatinine by a direct colorimetric method. *Clin Chem Acta* 1973;43:395-410.
10. Lissi EA, Hanna-Salim M, Videla LA. Spontaneous urinary visible luminescence: characteristics and modification by oxidative stress-related clinical conditions. *Braz J Med Biol Res* 1994;27:1491-505.
11. Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 1984;105:328-31.
12. Whitehead T, Thorpe GHG, Maxwell S. Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Anal Chem Acta* 1992;226:265-77.
13. Volek JS, Duncan ND, Mazzetti SA, Staron RS, Putukian M, Gomes AL, et al. Performance and muscle fiber adaptations to creatine supplementation and heavy resistance training. *Med Sci Sport Exerc* 1999;31:1147-56.
14. Souza Junior TP. Suplementação de creatina e treinamento de força: alteração da resultante de força máxima maximorum, hipertrofia muscular e variáveis antropométricas [Dissertação de mestrado em Ciências do Esporte]. Campinas: Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas, 2002.

15. Kearney JT, Rundell KW, Wilber RL. Measurement of work and power in sport. In: Garret WE, Kirkendall DT, editors. Exercise and sport science. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
16. Lew H, Pyke S, Quintanilha AT. The effects of physical exercise on the antioxidative capacity of the liver. *Bioelectrochem Bioenerg* 1987;18:231-46.
17. Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Kortotiuus RJ. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *J Appl Physiol* 1990;68:2337-43.
18. Drapper HH, Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous malondialdehyde. *Xenobiotica* 1990;20:901-7.
19. Maughan RJ, Donnelly AR, Gleeson M, Whiting PH, Walker KA. Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. *Muscle Nerve* 1989;12:332-6.
20. Kanter MM, Lesmes GR, Nequin ND, Kaminsky LA, Saeger JM. Serum lipid levels and lipid peroxidation in ultramarathon runners. *Ann Sports Med* 1986;3: 39-41.
21. Kanter MM, Hamlin RL, Unverferth DV, Davis HW, Merola AJ. Effect of exercise training on antioxidative enzymes and cardiotoxicity of doxorubicin. *J Appl Physiol* 1985;59:1298-303.
22. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:1576-81.
23. Casey A, Greenhaff PL. Does dietary creatine supplementation play a role in skeletal muscle metabolism and performance? *Am J Clin Nutr* 2000;72(Suppl): 607-17.
24. Bellinger BM, Bold A, Wilson GR, Noakes TD, Myburgh KM. Oral creatine supplementation decreases plasma markers of adenine nucleotide degradation during 1-h cycle test. *Acta Physiol Scand* 2000;170:217-24.