Artigo revisão

Carine Ferreira de Souza[1,2]
Luiz Cláudio Fernandes[2]
Edilson Serpeloni Cyrino[1]

PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO DURANTE O EXERCÍCIO AERÓBIO E ANAERÓBIO

PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES DURING THE AEROBIC AND ANAEROBIC EXERCISE

RESUMO

O efeito protetor do exercício físico contra doenças está bem estabelecido na literatura, embora haja conhecimento de que sua prática gera radicais livres. Apesar de a mitocôndria ser a principal fonte de radicais livres, os processos de isquemia, inflamação e reperfusão também podem causar formação de radicais livres. A partir de uma ampla revisão da literatura, o objetivo deste estudo foi investigar o impacto do exercício físico sob condições de aerobiose e anaerobiose sobre a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO). Verificou-se que o dano celular e tecidual por radicais livres, causado por peroxidação lipídica e inflamação, ocorre em ambos os tipos de exercícios físicos, sobretudo em esforços de alta intensidade. Existem indicações de que a geração de ERO durante o exercício físico não pode ser modulada pelo treinamento regular, contudo, o ambiente celular pode aumentar a concentração endógena de antioxidantes para compensar o estresse provocado. Além disso, a regulação de ERO pode acontecer de forma diferenciada em exercícios aeróbios e anaeróbios. Portanto, o monitoramento do estresse oxidativo pode ser bastante importante, particularmente, em exercícios anaeróbios.

Palavras-chave: espécies reativas de oxigênio, estresse oxidativo, exercício aeróbio, exercício anaeróbio.

ABSTRACT

The protective effect of physical exercise against diseases is well established in literature, although it is known that exercising generates free radicals. Despite the mitochondria being the main source of free radicals, the processes of ischemia, inflammation, and reperfusion can also form free radicals. The purpose of this literature review was to investigate the impact of both aerobic and anaerobic physical exercise on the generation of reactive oxygen species (ROS). We verified that cellular and tissue damage by free radicals, caused by lipid peroxidation and inflammation, occurs in both types of physical exercises, especially in high intensity efforts. There are indications that ROS generation during physical exercise cannot be modulated by regular training, however, the cellular environment can increase antioxidant endogenous concentration to compensate for that stress. Moreover, ROS regulation can differently occur in aerobic and anaerobic exercises. Therefore, the control of oxidative stress may be very important, particularly, in anaerobic exercises.

Key words: reactive oxygen species, oxidative stress, aerobic exercise, anaerobic exercise.

[1] Grupo de Estudo e Pesquisa em Metabolismo, Nutrição e Exercício. Centro de Educação Física e Desportos. Universidade Estadual de Londrina.
[2] Laboratório de Metabolismo Celular. Setor de Ciências Biológicas. Departamento de Fisiologia. Universidade Federal do Paraná.

INTRODUÇÃO

O exercício físico, tanto aeróbio quanto anaeróbio, pode promover importantes adaptações morfofuncionais e metabólicas no organismo[1], embora sua prática esteja relacionada, também, à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO)[2,3], tais como: oxigênio singlete ($^1O_2$), ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($^{\bullet}OH$). Além desses existem também radicais livres como o óxido nítrico (NO) que ao reagir com o ânion superóxido gera peroxinitrito ($ONOO^-$). A produção de NO é catalisada pela enzima óxido nítrico sintase (NOS), a qual possui três diferentes isoformas: neuronal (nNOS), indizível (iNOS) e endotelial (eNOS)[4]. Estas espécies reativas, tanto derivadas do oxigênio quanto do nitrogênio, durante a prática de exercícios físicos, podem ser produzidas por diversos mecanismos, dentre os quais se destacam a redução parcial de oxigênio nas mitocôndrias, o processo inflamatório, bem como os processos de isquemia e reperfusão[5].

Nesse sentido, o processo inflamatório é uma importante fonte de ERO durante o exercício físico, uma vez que contrações intensas provocam lesões nas fibras musculares, que requerem remoção das proteínas danificadas, seguida por ressíntese de novas proteínas[6].

A prática de exercícios físicos predominantemente aeróbios provoca aumento do fluxo de oxigênio na mitocôndria, sendo que aproximadamente dois a cinco por cento deste oxigênio não são completamente reduzidos, formando assim ERO[7]. Por outro lado, apesar do exercício anaeróbio ser executado independente do aporte de oxigênio, a produção excessiva de ERO tem sido verificada durante esse tipo de esforço[8], provavelmente por outros mecanismos. Vale destacar que nesse tipo de esforço, o estresse metabólico aumenta a degradação de adenosina trifosfato (ATP), ativando o mecanismo da xantina oxidase (XO), com produção adicional de ânions superóxido[7].

Devido à facilidade com que os radicais livres reagem com outras moléculas, eles possuem uma meia vida muito curta, dificultando sua mensuração direta. Portanto, a maioria dos estudos a esse respeito tem utilizado alguns produtos das reações dessas moléculas com componentes celulares, como lipídios, proteínas e ácidos nucléicos, como biomarcadores de lesão oxidativa.

Vale ressaltar que dentre os componentes celulares suscetíveis à ação de radicais livres, a membrana celular é um dos mais atingidos, tendo em vista a grande disponibilidade e suscetibilidade dos ácidos graxos polinsaturados das membranas à peroxidação lipídica, podendo desencadear uma reação em cadeia[9]. Os produtos finais desse processo são os hidroperóxidos lipídicos, que podem se decompor em aldeídos, sobretudo malondialdeído (MDA), além de hidrocarbonetos voláteis, como o etano e o pentano.

Considerando que a maioria das investigações sobre estresse oxidativo tem adotado protocolos, envolvendo exercícios predominantemente aeróbios, além do que os poucos estudos, envolvendo esforços anaeróbios, têm analisado parâmetros isoladamente, acredita-se que uma avaliação mais detalhada das informações disponíveis na literatura possa proporcionar valiosas contribuições para a compreensão da relação entre estresse oxidativo e exercício físico.

Assim, o propósito desta revisão foi analisar as possíveis relações entre os mecanismos de produção de radicais livres nos exercícios físicos aeróbios e anaeróbios e discutir os efeitos dessa prática sobre a atividade de algumas enzimas antioxidantes. Para tanto, inicialmente, foram realizadas buscas em algumas das principais bases de dados disponíveis (Medline/Pubmed, Sportdiscus, Lilacs e SciELO) combinando-se as seguintes palavras-chave: espécies reativas de oxigênio, exercício físico e estresse oxidativo.

ESTRESSE OXIDATIVO E EXERCÍCIO PREDOMINANTEMENTE AERÓBIO

A prática de exercícios físicos predominantemente aeróbios está associada a danos celulares acarretados pela produção excessiva de radicais livres, dentre os quais se destaca a lesão da membrana celular, representada pelo aumento no extravasamento da enzima citosólica creatina quinase (CK) para o plasma durante o esforço.

Estudos envolvendo esforços físicos até exaustão têm relatado aumento significativo nas concentrações de CK plasmática imediatamente após exercício em esteira (~137%)[10] em ratos, e três (~74%), 24 (~219%) e 48 h (~129%) após teste incremental até a exaustão, seguido por 15 min de corrida a 110% do limiar anaeróbio individual, previamente determinado, em humanos[11].

O estresse celular, indicado pelas concentrações plasmáticas de CK, pode provocar danos, atraindo células inflamatórias. Nesse sentido, pesquisas têm verificado aumento plasmático de neutrófilos imediatamente após teste em esteira até a exaustão[11,12], bem como após corrida de maratona (~360%)[13]. Entretanto, as quantidades de H_2O_2 produzidas por células inflamatórias são insuficientes para induzirem uma destruição adequada. Contudo, os neutrófilos contêm em seus grânulos azurófilos a enzima mieloperoxidase (MPO) que, na presença de íon cloreto (Cl^-), converte H_2O_2 em ácido hipocloroso (HOCl), que também induz lesão oxidativa, facilitando assim a destruição[14]. Entretanto, poucos estudos têm analisado a resposta dessa enzima ao exercício físico predominantemente aeróbio.

Em uma dessas investigações, Suzuki et al.[13]

encontraram aumentos na atividade de MPO, tanto no plasma (~duas vezes) quanto na urina (~12 vezes), após uma corrida de maratona. Este aumento da atividade de MPO após exercício exaustivo parece ser sistêmico, uma vez que Belcastro et al.[10] verificaram elevação significativa, também, em outros locais como fígado (~40%), coração (~51%) e músculo gastrocnêmio (~41%).

Durante o exercício físico, o fígado parece ser um importante alvo da peroxidação lipídica, uma vez que, tanto o exercício submáximo[15] quanto o exercício realizado até a exaustão em esteira, induzem aumento significativo nas concentrações de MDA[16].

Vale ressaltar que os estudos que têm investigado o comportamento de biomarcadores de peroxidação lipídica, no músculo esquelético, apresentam resultados conflitantes. Nesse sentido, tem sido observado que músculos predominantemente glicolíticos apresentam aumento nos valores de MDA, tanto após exercício até exaustão em esteira (~30%) quanto após exercício submáximo (~26%)[17].

Por outro lado, a porção profunda do músculo vasto lateral, que possui predominantemente fibras oxidativas de contração rápida, apresentou aumento de MDA após teste máximo em esteira a 25 m/min[17], sem alteração a 20 m/min tanto em intensidade máxima[16] quanto submáxima[15], em ratos. No entanto, no músculo sóleo, caracteristicamente oxidativo, verificou-se aumento de MDA após exercício até a exaustão em esteira, a uma velocidade de 24 m/min, com 15% de inclinação[18]. Apesar disso, essas divergências parecem não interferir nas modificações plasmáticas de MDA, tendo em vista que vários estudos encontraram elevação significativa desta variável imediatamente após exercício agudo[2,18-20]. Portanto, alterações plasmáticas parecem estimar equivocadamente a produção de MDA no músculo esquelético.

A utilização de MDA como indicador de peroxidação lipídica vem sendo alvo de muitas críticas, visto que esse composto também pode ser produzido em outras reações, além do que nem todos os produtos de peroxidação lipídica geram MDA. Assim, atualmente, recomenda-se o emprego de mais do que um biomarcador de peroxidação lipídica concomitantemente, como a análise de hidroperóxidos por meio da técnica do xilenol laranja, que possui sensibilidade suficiente para detectar amplo espectro de peroxidação[21] ou outros biomarcadores.

Nesse sentido, um aumento nas concentrações de MDA foi verificado concomitantemente com aumento de pentano expirado após 30 min de corrida em esteira a 60% do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), em indivíduos jovens[22]. Além disso, Davies et al.[20] encontraram aumento tanto de MDA quanto do sinal de ressonância paramagnética de spin de elétron (ESR), no fígado (~135%, em ambas) e no músculo gastrocnêmio (~81% e 112%, respectivamente) de ratos após teste submáximo em esteira, seguido por um teste progressivo até a exaustão, executado após 48 h. Além disso, neste estudo, o uso de uma dieta deficiente em vitamina E (< 1 UI de vitamina E/kg da dieta) durante cinco semanas, aumentou os valores de repouso de MDA (~42%) e do sinal de ESR (~32%), indicando o importante papel da vitamina E como interruptor da cadeia de peroxidação lipídica.

Adicionalmente, Ashton et al.[2] verificaram aumento significativo de MDA (~14%), de hidroperóxidos lipídicos (~42%) e do sinal de ESR (~280%), em homens saudáveis submetidos a um teste incremental até a exaustão em cicloergômetro. Contudo, após suplementação com um grama de ácido ascórbico, durante oito semanas, nenhuma modificação significativa frente ao exercício físico foi verificada. Vale destacar que, infelizmente, a falta de comparação entre os grupos controle e suplementação, por meio de uma análise de variância para medidas repetidas com dois fatores, dificulta uma interpretação mais consistente dos dados.

Vitaminas antioxidantes, tanto na membrana (vitamina E) quanto no plasma (ácido ascórbico), parecem desempenhar importante papel no combate as ERO geradas pelo exercício físico predominantemente aeróbio.

Nesse sentido, Bryant et al.[19] submeteram sete ciclistas treinados a quatro períodos de suplementação com duração de três semanas cada, na seguinte ordem: placebo (Pl) (cápsulas de celulose), um grama/dia de vitamina C (vit C), um grama/dia de vitamina C mais 200 UI de vitamina E (vit C/E) e 400 UI/dia de vitamina E (vit E). Antes e após cada período de suplementação, os indivíduos pedalaram 60 min a 70% do $VO_{2máx}$ individual a uma freqüência de 90 rpm, seguidos por 30 min com a mesma carga, contudo, com a freqüência de pedalada sendo estabelecida pelos próprios atletas. Nesse estudo, o exercício provocou aumento de MDA no grupo Pl, retornando aos valores de repouso em 24 h. Um comportamento semelhante foi encontrado no grupo vit C, embora com valores superiores aos do grupo Pl. Por outro lado, os grupos que receberam vitamina E (vit E e vit C/E) apresentaram valores similares aos do grupo Pl, apesar do grupo vit C/E não apresentar alterações com o exercício, ao passo que no grupo vit E, os valores de MDA aumentaram tanto imediatamente quanto 24 h após exercício. Apesar do estudo não ter adotado um intervalo, aparentemente necessário, de *wash-out* entre os períodos de suplementação, especula-se que a suplementação com vitamina C possa ter acarretado maiores conseqüências pró-oxidantes do que antioxidantes, ao contrário da vitamina E, justificando a necessidade de novos estudos nessa direção.

Vale ressaltar que poucos estudos tentaram analisar o efeito do treinamento físico sobre biomarcadores de peroxidação lipídica. Além disso, como pode ser observado a seguir, existe uma grande

diferença entre as investigações quanto ao período de treinamento e de coleta de dados, o que provavelmente possa justificar a discordância entre os resultados.

Radák et al.[23], após submeterem ratos a nove semanas de treinamento de natação, sendo as primeiras seis semanas com duração de 60 min e as demais com duração de 90 min, não verificaram modificações significativas de MDA no músculo gastrocnêmio, 24 h após a última sessão de treinamento. Por outro lado, Liu et al.[24], após oito semanas de treinamento em esteira, verificaram maiores valores de MDA, nos músculos cardíaco e vasto lateral, após 48 h após da última sessão de treinamento com ratas. Entretanto, o mesmo não se confirmou após exercício agudo até exaustão.

Alessio e Goldfarb[15], por sua vez, após submeterem ratos a 18 semanas de treinamento em esteira, verificaram menores valores de MDA em repouso, no fígado e na porção profunda do músculo vasto lateral, quando comparados aos valores encontrados em indivíduos sedentários.

Considerando que a fonte de energia para o trabalho muscular é o ATP, o aumento de sua degradação durante o exercício físico eleva as concentrações de Ca^{+2} intracelular o que, por sua vez, ativa proteases dependentes de Ca^{+2}, que regulam a proteólise parcial da xantina desidrogenase, convertendo-a a sua forma oxidase. A XO resultante utiliza o oxigênio molecular como aceptor de elétrons, reduzindo-o a ânion superóxido[7]. Portanto, o mecanismo da XO parece ser uma importante via de produção de ERO durante exercício físico extenuante.

Nesse sentido, Hellsten et al.[25] encontraram aumento significativo na imunorreatividade de XO, no músculo esquelético, uma hora após submeterem, durante uma semana, militares a 150 km de marcha com aproximadamente 30 kg de equipamentos. Aumento similar foi verificado por Radák et al.[23], em ratos, imediatamente após teste até exaustão em esteira, retornando aos valores de repouso 24 h mais tarde.

Um importante meio para se evitar possíveis lesões oxidativas a estruturas celulares decorrentes do exercício físico é o aumento na atividade de enzimas catalisadoras de reações que neutralizam radicais livres. A melhor estratégia para aumentar a concentração de antioxidantes endógenos pode ser o próprio estresse oxidativo. As ERO produzidas durante o exercício podem ativar vias de sinalização que aumentam a expressão de enzimas antioxidantes[26].

O treinamento físico parece aumentar a atividade da catalase, visto que animais sedentários apresentam redução significativa nas concentrações dessa enzima decorrente do exercício físico agudo, diferente do observado em animais treinados[27]. Vale destacar que o aumento da atividade da catalase, decorrente do exercício físico agudo, parece ocorrer somente em fibras oxidativas de contração rápida[16,17], ao passo que as enzimas superóxido dismutase e glutationa peroxidase aparentemente sofrem incrementos nos três principais tipos de fibras musculares, ou seja, oxidativa de contração lenta, glicolítica e oxidativa de contração rápida[16-18].

ESTRESSE OXIDATIVO E EXERCÍCIO PREDOMINANTEMENTE ANAERÓBIO

O aumento das concentrações plasmáticas de CK pode ser utilizado, também, como indicador de estresse durante protocolos de esforços predominantemente anaeróbios. Contudo, esse aumento parece apresentar uma cinética dependente das características do esforço precedente, tornando-se mais evidente de dois a quatro dias após exercício excêntrico[8,28,29]. Vale ressaltar que estudos que empregaram medidas, imediatas ou tardias, de CK apresentam resultados conflitantes.

Um dos fatores que pode conduzir ao rompimento da membrana é o processo de peroxidação lipídica. Nesse sentido, McBride et al.[30] encontraram aumento de MDA plasmático seis e 24 h após a execução de três séries de 10 repetições, em oito exercícios contra-resistência executados em forma de circuito, com intervalos de dois minutos na primeira série, um minuto e meio na segunda e um minuto na terceira, caracterizando o protocolo como de alta intensidade. Contudo, um aumento de MDA, imediatamente após o encerramento dos exercícios, foi verificado no grupo que recebeu suplementação com 1.200 UI de vitamina E, durante duas semanas, com os valores, depois de 24 e 48 h, sendo considerados semelhantes àqueles encontrados no período pré-exercício.

Por outro lado, Saxton et al.[29] não verificaram modificações significativas nas concentrações plasmáticas de MDA, de um a 10 dias após a execução de 70 séries do exercício rosca direta de bíceps, realizado em uma máquina. O mesmo foi encontrado para concentrações musculares de MDA, imediatamente e dois dias após a execução de 80 séries do exercício extensão de joelhos na máquina. Contudo, a intensidade gerada pelo protocolo empregado nesse estudo pode não ter sido suficiente para aumentar significativamente o estresse oxidativo, uma vez que a maioria dos estudos, nos quais foram encontradas modificações, tem utilizado protocolos de alta intensidade.

Desse modo, Groussard et al.[3] verificaram incremento significativo da intensidade do sinal de ESR, 20 min após o encerramento de um teste de Wingate (30 s), com carga correspondente à potência máxima. Vale ressaltar que os valores retornaram aos níveis de repouso em aproximadamente 40 min, enquanto que a concentração plasmática de MDA declinou a partir do vigésimo minuto após o encerramento do teste. Com base nessas informações

os autores sugerem que a recuperação do exercício anaeróbio talvez promova remoção de MDA. Logo, a concentração plasmática de MDA não parece ser um marcador adequado para análise do estresse oxidativo durante esse tipo de esforço, embora ainda seja um dos marcadores mais empregados. Portanto, o monitoramento da peroxidação lipídica por meio de métodos mais sensíveis como ESR ou, até mesmo, dosagens de hidroperóxidos lipídicos, tanto imediatamente quanto nos dias subseqüentes ao exercício, parece fornecer informações mais precisas.

Child et al.[8] verificaram, em uma amostra composta somente por homens, aumento significativo de hidroperóxidos lipídicos, dois a quatro dias após contrações excêntricas a 80% de uma repetição máxima (1-RM), retornando aos valores de repouso no sétimo dia. No entanto, como não tem sido observado aumento significativo no consumo de oxigênio durante essas atividades[31], outros mecanismos, além do estresse oxidativo decorrente da cadeia respiratória, parecem estar envolvidos nesse processo, uma vez que exercícios predominantemente anaeróbios podem induzir danos oxidativos as proteínas, aos lipídios e ao DNA[31].

Alternativamente à mitocôndria, o processo inflamatório parece mais condizente com o estresse metabólico provocado por contrações anaeróbias intensas. Nesse sentido, Beaton et al.[26] verificaram que 24 séries de 10 contrações excêntricas, intercaladas por um minuto de recuperação, conduziram a ruptura da linha Z dos sarcômeros, seguida por aumento no número de macrófagos após 24 h.

Por outro lado, Meyer et al.[33] encontraram aumento significativo de monócitos imediatamente após um teste máximo em cicloergômetro, seguido por declínio nas duas horas subseqüentes. Todavia, quando o mesmo teste foi aplicado seguido por uma sessão de treinamento anaeróbio, composta por oito séries, com duração de 10 s, intervaladas por quatro minutos e meio de descanso, um aumento de monócitos foi identificado somente após duas horas do encerramento da prática, com os valores iniciais sendo restabelecidos ao longo das 24 horas subseqüentes. Vale destacar que ambos os protocolos conduziram a um aumento na concentração de neutrófilos duas horas após o término do exercício.

Tanto macrófagos quanto neutrófilos, quando ativados, liberam fatores de crescimento, proteases e ERO, bem como a enzima MPO, no caso dos neutrófilos. Childs et al.[8] verificaram elevação significativa tanto de MPO quanto de interleucina-6 (IL-6), dois a sete dias após exercício excêntrico, a 80% de 1-RM, embora o acompanhamento com suplementação de 12,5 mg de vitamina C e 10 mg de N-acetil-cisteína por kg de massa corporal, imediatamente e até sete dias após o exercício, tenha atenuado significativamente o aumento de MPO.

Em relação a IL-6, esse aumento parece não estar atrelado aos efeitos agudos do exercício físico, uma vez que Willoughby et al.[34] verificaram aumento significativo na concentração plasmática de ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) para IL-6, duas a quatro horas após séries de contrações excêntricas, a 150% de 1-RM, seguido por um declínio nas seis horas posteriores, não ocorrendo modificações adicionais até quatro dias após esforço. Conseqüentemente, os autores encontraram aumento no conteúdo plasmático de IL-6, quatro e seis dias após o exercício, com o restabelecimento dos valores pré-exercício até quatro dias após.

Um aumento no conteúdo plasmático de IL-6 também foi constatado por Meyer et al.[33], imediatamente e duas horas após um teste anaeróbio máximo em cicloergômetro, bem como após uma sessão de treinamento anaeróbio. Vale destacar que nenhuma alteração foi observada nas 24 h subseqüentes ao término do exercício.

Em contrapartida, Brenner et al.[35] não verificaram alterações plasmáticas significativas de IL-6 imediatamente, três, 24 e 72 h após treinamento em forma de circuito, composto por três séries de 10 repetições, a 60-70% de 1-RM, em cinco exercícios.

Mais recentemente, foi demonstrado que a IL-6 também é produzida pelo próprio músculo esquelético e exportada para a circulação[36]. Portanto, os dados referentes à mensuração desta interleucina pró-inflamatória devem ser interpretados com certa cautela, uma vez que não refletem exclusivamente a sua produção por meio de células inflamatórias.

Considerando que o exercício predominantemente anaeróbio parece modificar alguns parâmetros enzimáticos, Groussard et al.[3] verificaram redução de superóxido dismutase após teste de Wingate, enquanto Childs et al.[8] encontraram aumento somente três dias após exercício excêntrico, a 80% de 1-RM. Estes resultados sugerem que o exercício predominantemente anaeróbio conduz a um consumo de superóxido dismutase, ao passo que no período pós-exercício há um aumento, provavelmente, visando contrabalancear os efeitos do exercício físico. Em contrapartida, nenhuma alteração significativa nas concentrações de glutationa peroxidase foi identificada nesses estudos.

O exercício físico crônico parece potencialmente importante para atenuar o aumento do estresse oxidativo decorrente de uma sessão de exercício agudo, sem, contudo, eliminá-lo, desde que o protocolo de exercício físico apresente intensidade suficiente para aumentar a produção de ERO[32]. Apesar de ainda não terem sido evidenciadas adaptações no sistema antioxidante enzimático com o treinamento predominantemente anaeróbio, provavelmente modificações neste sistema estejam envolvidas na atenuação do estresse oxidativo.

Uma outra situação na qual se observa aumento do estresse oxidativo sem aumento concomitante no consumo de oxigênio é em altitude elevada, apesar

da hipóxia decorrente da baixa pressão de oxigênio. Nessa condição, há aumento na produção de ERO, bem como redução na atividade de enzimas antioxidantes[37].

Vale salientar que diferente do que ocorre no exercício físico, a contínua exposição a altitude elevada reduz o conteúdo e a atividade de enzimas antioxidantes. Portanto, essa é uma condição em que o uso de suplementação com antioxidantes exógenos pode ser uma estratégia valiosa.

O aumento de ERO e NO associado a altitudes elevadas ocorre por fontes distintas, incluindo cadeia respiratória na mitocôndria, xantina oxidase e iNOS. As ERO aumentam durante hipóxia e retornam em direção a valores pré-hipóxicos após retorno a normóxia. Considerando que a hipóxia provoca alteração do equilíbrio ERO/NO, a utilização de um processo de aclimatação pode ser extremamente benéfico para o restabelecimento desse equilíbrio[38].

EXERCÍCIO PREDOMINANTEMENTE AERÓBIO *VERSUS* ANAERÓBIO

Apenas dois estudos publicadas até o presente momento se propuseram a investigar o estresse oxidativo a partir de protocolos, utilizando exercícios concorrentes (aeróbio e anaeróbio).

O primeiro desses estudos, conduzido por Alessio et al.[31], utilizou a combinação entre corrida em esteira e contrações isométricas em dinamômetro de preensão manual. Os sujeitos, após executarem um teste máximo em esteira, foram submetidos a séries múltiplas de contração voluntária máxima, com duração de 45 s, intervaladas por 45 s de recuperação, até completarem o mesmo tempo gasto na corrida. Não foram encontradas alterações significativas, tanto no MDA quanto nos hidroperóxidos lipídicos, imediatamente e uma hora após teste máximo em esteira, embora um aumento significativo nas proteínas carboniladas no plasma (~67%) tenha sido verificado. Por outro lado, somente os hidroperóxidos lipídicos aumentaram tanto imediatamente quanto uma hora após o encerramento do exercício intermitente. Vale destacar que os dois modelos de exercício solicitavam predominantemente diferentes grupamentos musculares (perna – aeróbio; braço – anaeróbio) o que pode ter influenciado de alguma maneira a produção oxidante, principalmente, considerando a maior massa muscular solicitada durante o exercício físico aeróbio.

Mais recentemente, na tentativa de suplantar esse problema, Bloomer et al.[32] utilizaram dois protocolos envolvendo, sobretudo, membros inferiores. O protocolo aeróbio consistiu em pedalar durante 30 min em cicloergômetro, a 70% do $VO_{2máx}$ individual, enquanto o protocolo anaeróbio consistiu da execução de séries múltiplas 5-12 repetições, a 70% de 1-RM, até a exaustão no exercício de agachamento. O intervalo adotado pelos pesquisadores foi 90-120 s entre as séries, de modo que os sujeitos conseguissem perfazer 30 min de tempo total (trabalho+intervalo). Verificou-se aumento significativo na produção de proteínas carboniladas, 24 h após o encerramento de cada protocolo, ao passo que nenhuma modificação foi encontrada nas concentrações de MDA em ambos os modelos de exercício. Contudo, os autores relataram que a intensidade média real mantida durante os testes foi de 73% do $VO_{2máx}$ no teste aeróbio e 62% de 1-RM, visto que nem todos os sujeitos investigados conseguiram sustentar a intensidade estipulada durante o período de 30 min.

Os resultados apresentados pelas duas investigações indicam que protocolos de exercícios concorrentes podem apresentar danos oxidativos diferenciados. Dessa forma, parece necessário o emprego de diferentes biomarcadores de dano oxidativo (MDA, hidroperóxidos lipídicos, proteínas carboniladas e biomarcadores de danos ao DNA) em futuros estudos dessa natureza.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas informações apresentadas, pudemos verificar que tanto o exercício físico aeróbio quanto o anaeróbio acarretam estresse oxidativo, sendo a maioria das respostas e adaptações diferenciadas de acordo com os tipos de fibras musculares. Além disso, a cadeia respiratória não é o único fator determinante para o estresse oxidativo, uma vez que o processo inflamatório é desencadeado tanto pelo exercício predominantemente aeróbio quanto pelo exercício predominantemente anaeróbio. Vale ressaltar que o mecanismo da XO merece ser melhor estudado, considerando que este mecanismo também pode estar envolvido na produção de ERO, em ambos os modelos de exercício físico.

Um outro ponto importante a ser destacado é que os danos oxidativos a biomoléculas, sobretudo aos lipídios, como indicado por biomarcadores de peroxidação lipídica, tendem a ocorrer independente do modelo de exercício utilizado.

Apesar da grande maioria dos estudos utilizarem protocolos de alta intensidade, uma vez que esses são mais efetivos para o aumento da produção de radicais livres, o grande desafio para os pesquisadores dessa área deve ser o de desvendar as possíveis adaptações que a prática regular de diferentes exercícios físicos pode proporcionar aos mecanismos geradores de fadiga muscular, ao processo de envelhecimento e ao sistema antioxidante enzimático. Em adição, novos marcadores devem ser utilizados para confirmar o grau de peroxidação, uma vez que MDA não parece ser o marcador mais sensível.

Para finalizar, os protocolos de baixa a

moderada intensidade, executados com maior freqüência pela população em geral, devem ser investigados com maior criteriosidade, uma vez que esses tipos de esforços podem aumentar a ação de enzimas antioxidantes e outros antioxidantes endógenos, além de atenuar danos oxidativos gerados pelo exercício físico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wilmore JH, Costill DL. Fisiologia do esporte e do exercício. 2 ed. Rio de Janeiro: Manole; 2001.
2. Ashton T, Young IS, Peters JR, Jones E, Jackson SK, Davies B, et al. Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. J Appl Physiol 1999;87(6):2032-2036.
3. Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, Chevanne M, Vincent S, Sergent O, et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 2003;89(1):14-20.
4. ktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. Life Sci 2004; 75(6):639-653.
5. McBride JM, Kraemer WJ. Free radicals, exercise, and antioxidants. J Strength Cond Res 1999;13(2):175-183.
6. Clarkson PM, Sayers SP. Etiology of exercise-induced muscle damage. Can J Appl Physiol 1999;24(3):234-248.
7. Sjödin B, Westing YH, Apple FS. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. Sports Med 1990;10(4):236-254.
8. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. Free Rad Biol Med 2001;31(6):745-753.
9. Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Rev Ass Med Bras 1997;43(1):61-68.
10. Belcastro AN, Arthur GD, Albisser TA, Raj DA. Heart, liver, and skeletal muscle myeloperoxidase activity during exercise. J Appl Physiol 1996;80(4):1331-1335.
11. Niess AM, Fehrenbach E, Schlotz E, Sommer M, Angres C, Tschositsch K, et al. Effects of RRR-á-tocopherol on leukocyte expression of HSP72 in response to exhaustive treadmill exercise. Int J Sports Med 2002;23(6):445-452.
12. Quindry JC, Stone WL, King J, Broeder CE. The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. Med Sci Sports Exerc 2003;35(7):1139-1145.
13. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, et al. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. Med Sci Sports Exerc 2003;35(2):348-355.
14. Baynes J, Dominiczak MH. Bioquímica médica. São Paulo: Manole; 2000.
15. Alessio HM, Goldfarb AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptative response to training. J Appl Physiol 1988;64(4):1333-1336.
16. Ji LL, Fu R. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. J Appl Physiol 1992;72(2):549-554.
17. Ji LL, Fu R, Mitchell EW. Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. J Appl Physiol 1992;73(5):1854-1859.
18. Radák Z, Asano K, Inoue M, Kizaki T, Oh-Ishi S, Suzuki K, et al. Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. J Appl Physiol 1995;79(1):129-135.
19. Bryant RJ, Ryder J, Martino P, Kim J, Craig BW. Effects of vitamin E and C supplementation either alone and in combination on exercise-induced lipid peroxidation in trained cyclists. J Strength Cond Res 2003;17(4):792-800.
20. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. Biochem Biophys Res Commun 1982;107(4):1198-1205.
21. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clin Chem Acta 2001;306(1):1-17.
22. Kanter MM, Nolte LA, Holloszy JO. Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. J Appl Physiol 1993;74(2):965-969.
23. Radák Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvári M, et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. Free Radic Biol Med 1999;27(1):69-74.
24. Liu J, Yeo HC, Övervik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chu DW, et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. J Appl Physiol 2000;89(1):21-28.
25. Hellsten Y, Hansson HA, Johnson L, Frandsen U, Sjödin B. Increased expression of xanthine oxidase and insulin-like growth factor I (IGF-I) immunoreactivity in skeletal muscle after strenuous exercise in humans. Acta Physiol Scand 1996;157(2):191-197.
26. Ji LL. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. Ann N Y Acad Sci 2002;959:82-92.
27. Smolka MB, Zoppi CC, Alves AA, Silveira LR, Marangoni S, Pereira-da-Silva L, et al. HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2000;279(5):R1539-1545.
28. Beaton LJ, Allan DA, Tarnopolsky MA, Tiidus PM, Phillips SM. Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation. Med Sci Sports Exerc 2002;34(5):798-805.
29. Saxton JM, Donnelly AE, Roper HP. Indices of free-radical-mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1994;68(3):189-193.
30. McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production. Med Sci Sports Exerc 1998;30(1):67-72.

31. 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(9):1576-1581.
32. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. Can J Appl Physiol 2004;29(3):245-263.
33. Meyer T, Gabriel HHW, Rãtz M, Müller HJ, Kindermann W. Anaerobic exercise induces moderate acute phase response. Med Sci Sports Exerc 2001;33(4):549-555.
34. Willoughby DS, McFarlin B, Bois C. Interleukin-6 expression after repeated bouts of eccentric exercise. Int J Sports Med 2003;24(1):15-21.
35. Brenner IK, Natale VM, Vasiliou P, Moldoveanu AI, Shek PN, Shephard RJ. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1999;80(5):452-460.
36. Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, Keller C, Keller P, Plomgaard P, et al. The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor? Proc Nutr Soc 2004;63(2):263-267.
37. Bakonyi T, Radak Z. High altitude and free radicals. J Sports Sci Med 2004;3(2):64-69.
38. Gonzalez NC, Wood JG. Leukocyte-endothelial interactions in environmental hipoxia. Adv Exp Med Biol 2001;502:39-60.

Endereço para correspondência
Grupo de Estudo e Pesquisa em Metabolismo, Nutrição e Exercício
Centro de Educação Física e Desportos
Universidade Estadual de Londrina
Rod. Celso Garcia Cid, km 380, Campus Universitário
CEP 86051-990 – Londrina, PR - Brasil
E-mail: emcyrino@uel.br

Recebido em 03/11/05
Revisado em29/12/05
Aprovado em 10/02/06