

# Estado antioxidante do sangue como indicador da eficiência do treinamento em nadadores

Blood Antioxidant Status: A Parameter To Stablish The Swimmer Performance

Aguilar-Silva\* RH, Cintra BB\*\*, Milani S\*\*,  
Moraes TP\*\*, Tsuji H\*\*\*.

## Resumo:

Aguilar-Silva, RH.; Cintra, BB.; Milani, S.; Moraes, T.P. e Tsuji H. Estado antioxidante do sangue como indicador da eficiência do treinamento em nadadores. Rev. Bras. Ciên. e Mov. 10(3): 7-11, 2002

A prática regular de exercício deve levar à regulação da atividade das enzimas antioxidantes no músculo esquelético e os oxidantes atuam como indutores de tal efeito. O principal objetivo deste estudo foi determinar respostas metabólicas adaptativas ao estresse oxidativo em nadadores antes e após um período de treinamento. O estudo foi realizado com doze atletas da equipe de natação do Yara Clube de Marília, submetidos a um período de trinta dias de treinamento, seis vezes por semana. Os resultados demonstraram que exercícios de intensidade variável foram associados com redução na capacidade antioxidante do plasma e respostas adaptativas no sistema da GSH juntamente com a regulação positiva da atividade da SOD eritrocítica. Portanto, concluímos que o exercício físico prolongado em atletas moderadamente treinados, desenvolve uma resposta do sistema antioxidante numa tentativa de suplantando a geração de radicais livres advindos do metabolismo oxidativo e que o estado antioxidante intraeritrocítico e do plasma são eficientes indicadores do estresse oxidativo.

**PALAVRAS-CHAVE:** exercício, nadadores, capacidade antioxidante

## Abstract:

Aguilar-Silva, RH.; Cintra, BB.; Milani, S.; Moraes, T.P. e Tsuji H. Blood Antioxidant Status: A Parameter To Stablish The Swimmer Performance. Rev. Bras. Ciên. e Mov. 10(3): 7-11, 2002

The regular practice of exercise must lead to regulation of the antioxidant enzymes activity in skeletal muscle and the oxidants would act as inducers of such effect. The main purpose of this study was to determine adaptive metabolic answers to the oxidative stress in swimmers before and after training. The study was performed with twelve 15 years old athletes from Yara Club Swimmer's Team (Marília-SP), submitted a period of thirty days of training, six times a week. The results demonstrated that alternating intensity exercise was associated with reduction in plasma antioxidant capacity and adaptive answers in the GSH system together up regulation of the activity of red blood cell SOD activity. Therefore, we concluded that the lingering physical exercise in athletes moderately it develops an answer of the antioxidant system in an attempt of supplanting the generation of free radicals and that the antioxidant plasma and erythrocyte state are efficient indicators of the oxidative stress.

**KEY WORDS:** exercise, swimmer, antioxidant capacity.

Correspondência: Prof. Dr. Rinaldo H. Aguilar-Silva  
Faculdade de Medicina de Marília  
Av. Monte Carmelo, 800 CEP: 17519-000  
Marília –SP  
E-mail: rinaldo\_henrique@uol.com.br

\*Disciplina de Bioquímica, \*\*\*Endocrinologia e \*\*Discentes –  
Faculdade de Medicina de Marília

## Introdução

O sistema muscular pode ser considerado como um local de transformação de energia livre em energia cinética. Durante o repouso, 10 a 20% do sangue, normalmente, vão para o músculo esquelético. Porém, este volume aumenta para 85 a 90% durante o exercício, seguido pelo consequente aumento da oferta de glicose e oxigênio (3).

Green et al. (11) relatou indução da adaptação do metabolismo muscular após uma única sessão de exercício pesado. Aumento da atividade de enzimas tais como citrato sintase e malato desidrogenase são os primeiros eventos que ocorrem antes do aumento do potencial oxidativo.

O nível de condicionamento físico determina a eficiência com que o sistema cardiovascular fornece oxigênio à medida que ocorre o aumento da atividade muscular, possibilitando o uso de mais energia com uma frequência cardíaca menor, além de aumentar o número de mitocôndrias e os níveis de enzimas envolvidas na síntese aeróbia de ATP (17). Este é um processo de adaptação às demandas do exercício físico, de modo que mais energia torne-se disponível para o trabalho com menos fadiga (20).

A modificação biológica mais evidente observada durante o exercício é o aumento da taxa metabólica. Isto é parcialmente suportado pela atividade mitocondrial, já que mais de 1,5 a 2,0 minutos de trabalho muscular contínuo demanda um aumento significativo do consumo de oxigênio. Neste processo, cerca de 90 a 98% do oxigênio é reduzido à água pela citocromo oxidase.

A síntese mitocondrial de superóxido (16), mecanismos de isquemia/reperfusão ou oxidação das catecolaminas (19) são processos que podem originar estresse, os quais podem ser estabelecidos pelo exercício físico intenso. Este fato pode resultar numa condição pró-oxidante e os compostos oxidantes resultantes podem danificar as estruturas celulares se os antioxidantes não forem suficientes para suprir uma defesa eficiente (21).

A capacidade antioxidante dos tecidos e órgãos mostra-se diferente e, em ratos, Di Meo et al (7), observaram que o fígado exibe a maior capacidade, seguido pelo sangue, coração e músculo. No entanto, esta baixa capacidade antioxidante do músculo pode ser aumentada e a prática do exercício regular deve levar à regulação das enzimas antioxidantes no músculo esquelético (24) com os oxidantes atuando como indutores deste efeito. O treinamento eleva a capacidade oxidativa e antioxidante, diminuindo a peroxidação lipídica e aumentando a resistência à fadiga (28).

Muitos procedimentos para avaliar o conteúdo total de antioxidantes em misturas complexas, tais como os fluidos biológicos, estão agora disponíveis. Os eritrócitos circulantes são indicadores biológicos sensíveis dos efeitos do estresse oxidativo, graças à sua dinâmica fisiológica, que proporciona contato com as mais diversas estruturas, sua facilidade de obtenção e isolamento. Eles podem ser considerados “limpadores” móveis de radicais livres e providenciam uma proteção antioxidante adicional para outros tecidos e órgãos (25).

Como o exercício físico intenso pode infligir danos mecânicos e físicos aos tecidos, o desenvolvimento de trei-

namentos e técnicas específicas que possam minimizar a ação dos radicais livres e, conseqüentemente, melhorar o desempenho do atleta, tem sido de grande interesse (10, 27,6).

O presente trabalho relata algumas respostas bioquímicas adaptativas de nadadores moderadamente treinados usando parâmetros do sangue para medida do estado antioxidante.

## Material e Métodos

### Desenho experimental

Este estudo foi realizado em 12 atletas de 15 anos de idade, pertencentes à equipe de natação do Yara Clube de Marília (Marília-SP). Todos os atletas foram informados sobre o estudo e consentiram em participar da amostragem, bem como em não alterarem sua dieta durante o período do experimento.

Foi realizada uma coleta de sangue inicial por punção da veia braquial e transferida para tubos contendo EDTA 5% (uma gota por ml de sangue). Procedeu-se às análises bioquímicas em laboratório.

Os nadadores foram então treinados 6 dias por semana durante 30 dias. O treinamento teve a seguinte programação: fase terrestre durante 60 minutos para aquecimento e alongamento muscular, consistindo em exercícios de flexão e alongamento; fase aquática do treinamento, consistindo em natação durante 120 minutos, sendo o exercício de intensidade predominantemente moderada com picos de intensidade máxima em 30 minutos.

No último dia de treinamento, a pressão arterial foi registrada e o lactato sanguíneo foi determinado por meio de medidas pelo Lactômetro de reflexão Accusport e, então, realizou-se o último exercício de treino.

Após esse exercício, mediu-se novamente a pressão arterial, determinou-se o lactato sanguíneo. Uma amostra de sangue foi retirada e mantida em banho de gelo fundente até o momento da análise.

### Análises bioquímicas

O sangue total foi dividido em duas alíquotas: uma foi centrifugada a 5000 g por 3 minutos e o plasma foi usado para determinar o estado antioxidante, bilirrubina e ácido úrico; a outra foi usada para determinação da Superóxido Dismutase (SOD) e glutatona reduzida (GSH).

A capacidade antioxidante do plasma (FRAP- “ferric reducing ability of plasma”) foi determinada segundo Benzie & Strain (2) e mede a capacidade que o plasma apresenta para reduzir os íons  $Fe^{+++}$  em  $Fe^{++}$  em uma reação redox acoplada à um método colorimétrico.

Os valores de capacidade antioxidante do plasma foram calculados pela comparação da absorbância do teste com a absorbância de soluções de  $Fe^{++}$  de concentrações conhecidas (100 a 1000  $\mu\text{mol/l}$ ) que foram testadas em paralelo. A atividade relativa dos antioxidantes individuais foi calculada pela comparação da quantidade de um dado antioxidante com a quantidade de  $Fe^{++}$  necessária para dar a alteração de absorbância.

A bilirrubina livre foi determinada pelo kit analítico Doles e o ácido úrico pelo Kit analítico Biolab. A Superóxido Dismutase foi determinada segundo Beutler (4). A quantidade de enzima é relacionada à inibição da autoxidação do pirogalo. A glutatona reduzida foi medida segundo Beutler (4). O método consiste na redução química do ácido 5,5'-ditiobis(2-acido nitrobenzóico) na presença de glutatona.

Para analisarmos a significância dos dados, utilizou-se o teste estatístico t-de Student e o teste não paramétrico U de Mann-Whitney. A correlação entre os valores de FRAP nas diferentes condições e a concentração dos antioxidantes determinados foi estimada por análise de regressão e correlação.

## Resultados

Os valores médios de pressão sanguínea foram inicialmente (antes do exercício) **112 ± 12,4** mmHg. Após os 120 minutos de natação, a pressão sanguínea aumentou para **136 ± 17,9** mmHg.

A determinação de lactato mostrou uma rápida elevação até os 30 minutos, permanecendo nestes patamares até o final do exercício. Após 30 minutos de repouso, os níveis de lactato sanguíneo diminuíram, porém os níveis iniciais de repouso não foram alcançados. Os valores médios de lactato foram: antes do exercício 1,69 ± 0,38 mmol/l; após 30 minutos de exercício 5,21 ± 2,41 mmol/l e no período de repouso 3,08 ± 1,19 mmol/l.

**Tabela 1.** Parâmetros bioquímicos (média ± SD) antes e após o treinamento.

	SOD U/g/Hb	GSH µmol/g/Hb	Bilirrubina µmol/l	Ácido úrico µmol/l	FRAP µmol/l
<b>Antes</b>	1817,9 (± 106,4)	6,481 (±0,59)	10,73 (±2,54)	411,37 (±55,24)	1103,50 (±121,57)
<b>Após</b>	2207,4 * (±92,69)	4,595* (±0,52)	10,94 (±2,36)	410,03 (±54,60)	907,91** (±26,89)

\* $p < 0,0001$  (teste-t Student)

\*\* $p < 0,0001$  (teste U Mann-Whitney)

**Tabela 2.** Valores de FRAP (mmol/l) medidos e contribuição relativa do ácido úrico e bilirrubina (%).

FRAP		Contribuição		
		Ácido úrico	Bilirrubina	Desconhecido
<b>Antes</b>	(1103,53µmol/)	74,6	3,9	21,5
<b>Depois</b>	(907,9 µmol/l)	90,31	4,82	4,9

A concentração de ácido úrico e bilirrubina permaneceu constante e os níveis de GSH foram significativamente reduzidos (29,1%), enquanto os valores de SOD aumentaram (18,4%) (tabela 1).

Para os valores de FRAP determinados observou-se uma redução entre as condições antes do período de treinamento e, após o exercício, no último dia de treina-

mento. A contribuição relativa ao FRAP (tabela 2) mostrou-se grande para o ácido úrico em ambas as condições, no entanto a análise de regressão e correlação demonstrou que as variações nas concentrações de bilirrubina e ácido úrico não estão significativamente relacionadas às variações nos valores de FRAP.

A contribuição relativa do ácido úrico e da bilirrubina ao valor de FRAP aumentou para a condição após exercício, enquanto na fração desconhecida ou não mensurada (tabela 2) houve uma redução de, aproximadamente, 81%.

## Discussão

A atividade física funciona como um estímulo para vários sistemas do corpo, especialmente o nervoso, cardiovascular, endócrino e respiratório. Isto promove adaptações que variam com o tipo, duração e intensidade do exercício, com o objetivo de promover o aumento do metabolismo muscular.

Observamos que o aumento da pressão arterial foi o esperado considerando a demanda de oxigênio pelo organismo em resposta ao estresse físico (natação) e os valores obtidos estão dentro do intervalo de normalidade.

Os níveis de lactato sanguíneo são um parâmetro do estado adaptativo ao exercício físico. Observamos valores elevados de lactato, mesmo após o término do exercício. A elevação ocorre porque o ácido láctico irá se acumulando no sangue até que a taxa de metabolismo aeróbio e a velocidade de remoção do lactato sejam compatíveis com a demanda de energia.

Segundo JORFELFT et al (14) os aumentos no lactato sanguíneo representam, efetivamente, uma elevação do lactato muscular, sendo um eficiente indicador da quantidade de oxigênio utilizado, como observado por diversos autores (1,22,26).

Como os níveis ao final do exercício não retornaram ao nível de repouso, a energia necessária para a natação nessa velocidade não estava dentro da capacidade aeróbia do atleta e esta foi excedida.

Segundo MAGLISHIO (17), valores de lactato de, aproximadamente, 6 mmol/l situam-se acima do limiar anaeróbio para a maioria dos nadadores. O treinamento dos atletas a velocidades capazes de produzir tais concentrações propiciaria uma deterioração da capacidade aeróbia, como o observado por HECK et al.(12).

Nossos resultados indicam que os atletas podem ser considerados moderadamente treinados e, como o demonstrado pelo aumento da atividade da SOD intraeritrocítica, ocorreu a presença de estresse oxidativo, sendo a GSH um dos antioxidantes significativos nesta defesa.

A glutatona é reconhecida como um antioxidante fisiológico chave, dada sua alta capacidade de doar elétrons combinada com sua alta concentração intracelular, resultando em um grande poder redutor. Ela não só detoxifica espécies reativas de oxigênio diretamente, mas também melhora a habilidade de outros antioxidantes, como a vitamina C e E (5). O exercício influencia o equilíbrio da glutatona no músculo e fígado (15), aumentando a liberação de GSH para o plasma e aumentando a captação por tecidos extra-hepáticos, garantindo um suprimento adequado (13).

O urato também é considerado um poderoso antioxidante, como demonstrado por ROSELL et al. (23) que encontrou uma correlação positiva entre a capacidade antioxidante do plasma e os níveis de urato e por MIKAMI et al. (18) que sugere que os níveis de urato “in vivo” antes do exercício são um fator determinante na prevenção da peroxidação lipídica.

No entanto, os valores constantes para o ácido úrico e bilirrubina que encontramos sugerem que estes compostos não são os primeiros a serem usados na defesa do organismo contra os radicais livres produzidos.

Nossos resultados podem ser corroborados pelo trabalho de FREI et al. (8,9) que estabeleceu uma ordem temporal do consumo de antioxidantes do plasma humano de forma que as concentrações de arcobato e os grupamentos sulfidila de proteínas seriam os primeiros a serem consumidos, seguidos pela bilirrubina e em seguida pelo urato.

Em nossos resultados, observamos uma redução de, aproximadamente 18,8% do FRAP após o exercício, sendo que a fração de antioxidantes desconhecidos foi a principal responsável por esta defesa (redução de aproximadamente 80,0%). Nossos resultados sugerem que a GSH ou outros antioxidantes hidrossolúveis, como a vitamina C ou os grupamentos tióis de proteínas, seriam a primeira linha de defesa, sendo o urato poupado durante os estágios iniciais da reação.

Portanto, o treinamento ao exercício de resistência excedeu o limiar anaeróbio de nossos atletas, provocando um estresse oxidativo moderado, refletido no aumento da atividade da SOD eritrocítica e consumo de GSH, o que pode ter sido o principal determinante da diminuição da capacidade antioxidante do plasma.

## Conclusões

Nossos resultados sugerem que esses atletas podem ser considerados moderadamente treinados e, como o demonstrado pelo aumento da atividade da SOD intraeritrocítica, estão sob estresse oxidativo. Contudo, os valores constantes para o ácido úrico e bilirrubina sugerem que estes compostos não são os primeiros a serem usados pela defesa antioxidante do organismo. Os resultados sugerem que a GSH ou outros antioxidantes hidrossolúveis, como a vitamina C ou grupamentos tióis de proteínas podem ser a primeira linha de defesa.

Deste modo, o treinamento excedeu o limiar anaeróbio de nossos atletas, induzindo um estresse oxidativo moderado refletido no aumento da atividade da SOD eritrocítica e consumo da GSH, sendo antioxidantes não medidos os principais determinantes da capacidade antioxidante do plasma.

## Referências Bibliográficas

1) ATALAY, M., SEENE, T. e HANNINEN, O. Skeletal muscle and heart antioxidant defenses in response to sprint training. *Acta Physiol Scand.* 1996; 158(2): 129-34.

2) BENZIE, I.F.F. e STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 1996; 239(1): 70-76.

3) BERGMAN, B.C. et al. Endurance training increases gluconeogenesis during rest and exercise in men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 278: E 244 - E 251.

4) BEUTLER, E. Red cell metabolism: a manual of biochemical methods. 3ed. New York: Grune & Stratton, 1984.

5) CHANDAN, K.S. e PACKER, L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72(2): 653S-669S.

6) DEKKERS, J.C., VANDOORNEN, L.J. e KEMPER, H.C. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 1996; Mar 21(3):213-38.

7) DI MEO, S., VENDITT, P. e De LEO, T. Tissue protection against oxidative stress. *Experientia.* 1996; Aug 15: 52(8), 786-94.

8) FREI, B., STOCKER, R. e AMES, B.N. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988; Dec 85(24): 9748-52.

9) FREI, B.; ENGLAND, L.; AMES, B.N. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989; Aug 86(16): 6377-819.

10) GOLDFARB, A.H. Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. *Can J Appl Physiol.* 1999; Jun 24(3): 249-66.

11) GREEN, H. et al. Adaptations in skeletal muscle exercise metabolism to a sustained session of heavy intermittent exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol Metab.* 2000; 278: E118-E126.

12) HECK, H. et al. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. *Int J Sports Med.* 1985; Jun 6(3): 117-30.

13) JI, L.L. et al. Oxidative stress and aging: role of exercise and its influences on antioxidant systems. *Ann NY Acad Sci.* 1998; Nov 20, 854: 102-17.

14) JORFELT, L., JUHLIN-DANNFELT, A. e KARLSSON, J. Lactate release in relation to tissue lactate in human skeletal muscle during exercise. *J Appl Physiol.* 1978; Mar 44(3): 350-2.

15) LEEUWENBURGH, C. e JI, L.L. Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats. *J Nutr.* 1996; 126(7): 1833-43.

16) Li, JX. et al. Changes in membrane fluidity and lipid peroxidation of skeletal muscle mitochondria after exhausting exercise in rats. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1999; Jul 80(2): 113-7.

17) MAGLISCHO, E.W. Nadando ainda mais rápido. 1ª ed., São Paulo, Editora Manole, 1999.

18) MIKAMI, T.; YOSHINO, Y e ITO, A. Does a relationship exist between the urate pool in the body and lipid peroxidation during exercise?. *Free Radic Res.* 2000; 32(1): 31-9.

19) PACKER, L. Oxidants, antioxidants nutrients and athlete. *J Sports Sci.* 1997; Jun 15(3):353-63.

20) POWERS, S.K. e HAMILTON, K. Antioxidants and exercise. *Clin Sports Med.* 1999; Jul 18(3):525-36.

21) POWERS, S.K. e LENNON, S.L. Analyses of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 1999;Nov 58(4):1025-33.

22) PUTMAN, C.T. et al. Effects of short- term submaximal training in human on muscle metabolism in exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol Metab.* 1998; 275::E132-E139.

23) ROSSEL, M. et al. Serum urate determines antioxidant capacity in middle- aged men – a controlled, randomised diet and exercise intervention study. *J Intern Med.* 1999; Aug 246(2): 219-26.

24) SEN, C.K. Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Mol Cell Biochem.* 1999; Jun 196(1-2): 31-42.

25) SIEMS, W.G., SOMMERBURG, O. e GRUNE, T. Erythrocyte free radical and energy metabolism. *Clin Nephrol.* 2000; Feb (53): S 9 – 17.

26) TAN, N. et al. Effects of running training on the blood glucose and lactate in rats during rest and swimming. *Physiol Behav.* 1992; May 51(5): 927-31.

27) VENDITTI, P. e DI MEO, S. Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. *Int J Sports Med.* 1997; Oct 18(7): 497-502.

28) VINCENT et al. Short-term exercise training improves diaphragm antioxidant capacity and endurance. *Eur J Appl Physiol.* 2000; Jan 81(1-2): 67-74.