

ARTIGO DE REVISÃO

EXERCÍCIO FÍSICO INTENSO COMO PRÓ-OXIDANTE

mecanismos de indução de estresse oxidativo e conseqüências

Benedito Pereira¹, Tácito Pessoa de Souza Junior.²

¹Departamento de Esporte. Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo (USP). ²Faculdade de Educação Física de Santos – FEFIS-UNIMES.

Correspondência: Prof. Dr. Benedito Pereira. Departamento de Esporte, Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, Avenida Prof. Mello Moraes, 65, Butantã - CEP 05508-900. benepe@usp.br.

Recebido: 22/01/2009

Aceite: 06/02/2009

RESUMO

A prática regular de atividade física não-exaustiva é geralmente recomendada como meio de se controlar processos desencadeadores de doenças degenerativas. Contudo, estudos sobre estresse oxidativo demonstraram que o aumento no consumo de oxigênio (O_2) intracelular pode, paralelamente, favorecer a ocorrência de lesões oxidativas em biomoléculas. No caso da prática esportiva, essas lesões podem assumir dimensões ainda maiores devido à competição ou ao ritmo intenso de treinamento diário a que os atletas são submetidos. Estresse oxidativo relaciona-se com o desequilíbrio ocorrido no organismo em favor da formação de superóxido ($O_2^{\bullet -}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxil ($^{\bullet}OH$), dentre outros, denominados por espécies reativas de oxigênio (EROs), em detrimento das defesas antioxidantes químicas (vitamina C, E, carotenos, fenóis, etc.) e enzimáticas (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, etc.) disponíveis. Essas espécies químicas são consideradas as principais responsáveis em caso de ocorrência de estresse oxidativo durante o exercício físico, sendo o $^{\bullet}OH$ a mais lesiva (oxidante) de todas. Portanto, apesar de a atividade física moderada ser frequentemente relacionada com saúde, alguns efeitos colaterais provocados pela atividade física intensa podem resultar em alterações prejudiciais à funcionalidade celular. Dentre essas lesões, a peroxidação lipídica é a que vem sendo mais estudada, sendo que neste trabalho, pretende-se revisar o conhecimento existente sobre esse tema.

Palavras chaves: Estresse oxidativo, peroxidação lipídica, treinamento físico, antioxidantes.

ABSTRACT

The regular practice of physical activity is recommended usually with the aim to control the development of degenerative diseases. However, studies on oxidative stress demonstrated that the increase in the rate of oxygen consumption (O_2) in the cell could, in parallel, to favor the occurrence of oxidative damage in biomolecules. In the case of the athletic training, those lesions might assume larger dimensions. Oxidative stress refer to the unbalance occurred in the organism in favor of superoxide ($O_2^{\bullet-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical ($^{\bullet}OH$) formation, among others, denominated reactive oxygen species (ROS), comparative to the chemical (vitamin C, E, carotene, phenols, etc.) and enzymatic (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, etc.) antioxidants available. Those oxygen derived chemical species are responsible for the oxidative stress provoked by the intense physical exercise, being $^{\bullet}OH$ the more harmful chemical specie recognized. Therefore, in spite that physical activity is frequently related with fitness, some sided effects provoked by the intense physical activity might result in negative alterations of cellular functionality. Among the oxidative damage in biomolecules provoked by ROS, lipid peroxidation is the more studied. We intended in this work, to review the data available on this subject.

Key Words: oxidative stress, lipid peroxidation, exercise training, antioxidants.

INTRODUÇÃO

Apesar de o oxigênio (O_2) ter trazido grandes benefícios energéticos para os organismos, os mesmos tiveram que desenvolver ao longo da evolução das espécies, defesas antioxidantes químicas e enzimáticas contra seus intermediários reativos (superóxido [$O_2^{\bullet-}$], peróxido de hidrogênio [H_2O_2] e radical hidroxil [$\bullet OH$], dentre outros)^{1, 2}. Devido as suas propriedades físicas e químicas, esses intermediários recebem a denominação de espécies reativas de O_2 (EROs), sendo que destas somente o H_2O_2 não se qualifica como radical livre, porque não possui elétrons solitários (desemparelhados) na sua estrutura molecular^{3, 4}. Neste trabalho será adotada a denominação EROs para essas espécies químicas, assim como a simbologia química frequentemente utilizada por Halliwell³.

EROs com propriedades radicalares são tóxicas para os organismos porque são oxidantes fortes comparados com espécies não-radicalres⁵. Entretanto, as últimas podem se tornar mais tóxicas para os organismos quando propiciam a formação de outras EROs mais fortes, como é o caso do H_2O_2 que gera $\bullet OH$ na presença de Cu^+ ou Fe^{2+} . É importante considerar, portanto, quando se tem a intenção de estudá-las, que as mesmas possuem vida média curta em função de suas propriedades cinéticas e químicas⁶. Uma consequência disso é que danos oxidativos teciduais ou celulares são causados muito próximos dos sítios de suas formações⁷.

Em função disso, investigações recentes tem apontado para o possível envolvimento de EROs com a patogênese de muitas doenças (diabetes, doenças cardíacas, inflamação e doenças pulmonares) ou com processos fisiológicos (envelhecimento e defesas contra agentes patogênicos)⁸⁻¹³. No caso das doenças, EROs podem participar nos seus desenvolvimentos porque

causam danos oxidativos em DNA, lipídeos ou proteínas celulares¹⁴⁻¹⁸. Assim, como salientado antes, as proteções antioxidantes presentes em organismos são fundamentais para controlar possíveis processos degenerativos desencadeados por EROs^{19, 20}. Um outro tipo de investigação realizado de forma intensa atualmente, envolve estudos sobre a possível participação de EROs com lesões oxidativas teciduais e celulares em organismos submetidos ao exercício físico ou treinamento²¹. Essa hipótese foi lançada já na década de 1970, mas ganhou destaque principalmente a partir da década de 1980, devido aos trabalhos realizados pelos grupos de Davies et.al.²² e Jenkins et al.²³. Na década de 1970, Dillard et al.²⁴ foram pioneiros nessa abordagem experimental envolvendo estresse oxidativo e exercício físico.

Os motivos desse tipo de pesquisa são creditados ao fato de que durante a atividade física a demanda energética do organismo pode superar em várias vezes a do repouso com concomitante elevação na taxa de consumo de O₂ e possível produção paralela de EROs^{25, 26}. Entretanto, resultados obtidos por Alessio et al.²⁷ mostraram que outros fatores podem estar envolvidos, já que exercício realizado com contrações isométricas, em que não se observa elevação de forma significativa no consumo de O₂ sistêmico, também induz estresse oxidativo. Portanto, a hipótese de que o aumento no consumo de O₂ é o grande fator envolvido com estresse oxidativo durante o exercício físico é bastante criticada atualmente.

Apesar de estarmos interessados em revisar neste trabalho os efeitos de EROs sobre o organismo de humanos e animais submetidos ao exercício físico e treinamento, Reid & Durham²⁸ salientam a importância de espécies reativas de nitrogênio (ERNs) produzidas no organismo com propriedades reativas semelhantes as de EROs. Contudo, como ainda existem poucos estudos envolvendo ERNs e exercício físico, estando os dados disponíveis principalmente relacionando

óxido nítrico ($\text{NO}^\bullet$) com vazodilatação ou com sua reação com $\text{O}_2^{\bullet-}$ gerando peroxinitrito (ONOO^-), estas espécies químicas não serão abordadas aqui²⁹.

Salientamos que estresse oxidativo pode ocorrer no organismo em exercício físico quando a quantidade de EROs e ERNs produzida nesta condição for superior às defesas antioxidantes químicas e enzimáticas disponíveis³. A principal consequência disso é a possível ocorrência de lesões oxidativas em estruturas celulares e teciduais, como é o caso da peroxidação lipídica^{30, 31}. Neste trabalho, nosso objetivo principal é o de descrever e discutir principalmente a capacidade que o exercício físico e treinamento têm de induzir ou não estresse oxidativo, através de resultados obtidos com peroxidação lipídica tecidual desencadeada por ambos, com especial atenção aos processos celulares envolvidos com formação de EROs ativados pelo exercício físico intenso.

EXERCÍCIO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO

A hipótese de que EROs podem ser formadas em quantidades acima do normal nos tecidos e órgãos de animais e humanos durante o exercício físico foi investigada primeiramente por Dillard et al.²⁴. Os autores demonstraram aumento de lesões oxidativas em lipídeos no corpo nesta condição, utilizando como parâmetro, a quantificação de pentano e etano exalados pela respiração³². O pentano e o etano são formados durante o processo de peroxidação lipídica tecidual; sendo que, atualmente, devido à baixa qualidade dos dados obtidos neste tipo de estudo, este procedimento está sendo cada vez menos utilizado¹⁸.

Posteriormente, no começo da década de 1980, Davies et al.²² utilizaram a quantificação direta da formação de EROs no organismo de ratos submetidos ao exercício exaustivo. Isso é possível devido à alta sensibilidade da técnica utilizando ressonância eletrônica de spin,

apresentada por radicais livres. Esses autores mostraram que radicais livres são formados no organismo (músculo esquelético e fígado) durante o exercício físico intenso realizado por ratos até a exaustão. Posteriormente, Jackson et al.³³ demonstraram elevação em 70% no sinal de EROs em músculos estimulados eletricamente, comparado com o controle. Ressaltamos que esses grupos não estudaram tecidos de animais treinados. Para humanos, apenas uma relação indireta pôde ser estabelecida na época.

Mais recentemente, Ashton et al.³⁴, utilizando essa mesma técnica, registraram aumento no sinal de oxi-radicais no soro de humanos após o exercício físico intenso. Itoh et al.³⁵ utilizaram análise indireta para quantificar oxi-radicais formados no organismo de ratos treinados submetidos ao exercício físico intenso. Os resultados obtidos mostraram que o treinamento físico moderado prolongado reduz os valores plasmáticos basais de $\bullet\text{OH}$ mais significativamente do que o treinamento intenso.

Estudos realizados por Sastre et al.³⁶ e revisados posteriormente por Viña et al.^{6, 7} comprovaram que somente no exercício exaustivo há indução significativa de estresse oxidativo. De fato, estudando a oxidação de glutathione (GSH), um parâmetro chave na detecção de estresse oxidativo, Viña et al.⁷ demonstraram que estresse oxidativo ocorre somente quando o exercício for exaustivo porque encontraram relação linear entre concentrações sanguíneas de lactato e de glutathione oxidada (GSSG) durante o exercício. Concluíram que, se durante o exercício, a concentração sanguínea de lactato é mantida baixa, não há oxidação de GSH ou estresse oxidativo.

Animais envelhecidos submetidos ao exercício físico intenso apresentam maior quantidade de EROs em seus tecidos do que animais jovens submetidos ao mesmo tipo de esforço físico³⁷. De fato, foi demonstrado que o tecido muscular de animais e humanos

envelhecidos produz, para o mesmo valor relativo de VO_{2MAX} , mais EROs durante o exercício intenso do que o tecido muscular de jovens. Portanto, apesar de o exercício físico moderado impor efeitos positivos ao organismo em todas as idades, no caso do exercício intenso, o músculo senescente parece ser mais susceptível ao estresse oxidativo do que o organismo jovem. Além disso, existem algumas evidências de que EROs estão envolvidas com fadiga, já que substâncias químicas antioxidantes, injetadas intraperitonealmente em camundongos, promovem incremento na sustentação do exercício comparativamente aos animais não tratados previamente³⁸.

Pode-se dizer, portanto, que no exercício físico ou na contração muscular intensos podem ocorrer: 1) aumento na formação intracelular de $\bullet OH$, 2) produção intracelular de $O_2^{\bullet -}$ e H_2O_2 com possibilidade de liberação de ambos para o meio extracelular, porque são menos reativos que radical hidroxil e, 3) possibilidade de lesões oxidativas aumentadas em lipídeos, proteínas e DNA do organismo configurando ocorrência de estresse oxidativo nesta condição.

MECANISMOS DE FORMAÇÃO DE EROS DURANTE O EXERCÍCIO FÍSICO

Existem basicamente dois importantes processos celulares envolvidos na formação de EROs durante o exercício físico; a saber: 1) fluxo de elétrons pelo sistema de transporte de elétrons mitocondrial e, 2) atividade do ciclo de degradação de purinas, processo conhecido por ser considerado importante na indução de danos celulares em órgãos submetidos à isquemia seguida de reperfusão. De acordo com Ji³⁹⁻⁴¹, o primeiro processo é mais importante em atividades físicas prolongadas e o segundo em situações em que o metabolismo anaeróbio alático predomina na obtenção de energia: contração muscular isométrica, treinamento de força, corridas

de curta duração intensa e exercício em ambiente hipóxico (treinamento ou exercício realizados em grandes altitudes)^{40, 42}.

No que diz respeito ao sistema de transporte de elétrons intramitocondrial, consideram-se o complexo I, que consta da NADH ubiquinona redutase e, o complexo 3, composto pela citocromo c redutase, como os dois principais sítios de formação de $O_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 nesta organela⁴³⁻⁴⁵. O segundo sítio citado representa como fator importante a transição de dois elétrons do NADH e $FADH_2$ para a transferência de um elétron da ubiquinona, envolvendo formação de semiubiquinona. Mais recentemente, Kussmaul & Hirst⁴⁶ afirmaram que as evidências disponíveis favorecem a afirmação de que é a produção de $O_2^{\bullet-}$ pelo complexo I, com liberação para a matriz mitocondrial, que é predominante; mas sem haver consenso quanto ao mecanismo de sua produção. Portanto, vazamento de elétrons para o O_2 neste segmento do sistema produz $O_2^{\bullet-}$ que sofre desproporcionamento espontâneo ou é rapidamente reduzido a H_2O_2 pela enzima Mn-SOD (mitocondrial). Uma vez na presença de metais de transição, como o Cu^+ e Fe^{2+} , H_2O_2 pode facilitar a formação de $^{\bullet}OH$ nas conhecidas reações de Fenton/Haber-Weiss^{47, 48}.

Foi estimado que a mitocôndria hepática produz 24 nmol de $O_2^{\bullet-}$ /min/g de tecido, enquanto que são produzidos pela mitocôndria cardíaca 0,3-0,6 nmol/min/mg de proteína, representando 2% do total tecidual de O_2 consumido. Em artigos já clássicos, publicados por Loschen et al.⁴⁹ e Boveris⁵⁰, os autores determinaram que no estado 4, isto é, quando a respiração não está ocorrendo, em torno de 2% de todo O_2 consumido pelas mitocôndrias não convertido à água, são reduzidos a EROs. Portanto, em termos teóricos, é possível afirmar que pode ocorrer aumento na formação mitocondrial de EROs durante o exercício físico, porque sabe-se que nesta condição o consumo de O_2 corporal eleva-se em torno de 20% e o celular acima de 100%²⁶.

Mesmo assim, existem poucas evidências a favor dessa hipótese. Ressaltamos que essa proposta deriva-se do fato de se assumir que o percentual de O_2 reduzido à $O_2^{\bullet -}$ é proporcional ao aumento no consumo de O_2 intracelular. Contudo, estudos realizados *in vitro* modificaram acentuadamente essa hipótese, demonstrando que a formação de EROs mitocondrial no estado 3, quando todos os substratos da respiração estão disponíveis no meio de suspensão, é negligenciável⁵¹. Isso significa que a formação de EROs mitocondrial durante o exercício pode não ser maior do que o normal, podendo até ser menor que no repouso^{6, 7}. Em estudos realizados por Ji^{52, 53}, utilizando DCFH (diclorofluoresceína), uma sonda capaz de detectar diretamente H_2O_2 , descobriram aumento insignificante na produção de EROs mitocondrial isoladas de coração, músculo e fígado de ratos exercitados ou sedentários. Entretanto, como salientado pelos autores, esses dados não devem excluir a teoria em teste porque o exercício exaustivo não equivale ao estado 3 da respiração mitocondrial. Além disso, o isolamento mitocondrial demora aproximadamente uma hora, com a possibilidade de que a ocorrência de danos induzidos pelo exercício desapareça nesse período, assim como DCFH pode reagir com outras espécies químicas⁴⁸.

Ji⁵² salienta em sua revisão que a hipótese de produção mitocondrial de EROs como fonte primária durante o exercício tem recebido algum suporte por dados obtidos indiretamente. Por exemplo, foi demonstrado que o estado 4 eleva-se na respiração mitocondrial no músculo, fígado e coração após exercício exaustivo, indicando a possibilidade de vazamento de elétrons na membrana desta organela. Neste estudo, o índice de controle respiratório foi reduzido como resultado de aumento no estado 4 da respiração com nenhuma mudança ou pequeno aumento proporcional no estado 3 da respiração em resposta ao exercício. A peroxidação lipídica mitocondrial foi elevada após o exercício, acompanhada de perda de conteúdo de grupos tiólicos

de proteínas e inativação de enzimas oxidativas. Além disso, tanto mitocôndrias de coração ou de músculo esquelético demonstram perda de acoplamento respiratório e queda no estado redox de GSH. A hipótese de formação mitocondrial de EROs durante o exercício intenso é também demonstrada indiretamente pela elevação observada na atividade de enzimas antioxidantes mitocondriais (Mn-SOD e GSH-pX – glutathione peroxidase) pelo treinamento físico intenso.

Duarte et al.⁵⁴ sugeriram que o endotélio também pode ser fator importante na indução de formação de EROs com concomitante ocorrência de danos musculares induzidos pelo exercício. Neste contexto, foi hipotetizado pelos autores que a ativação da enzima xantina oxidase poderia ser o fator responsável. Esses dados induziram Viña et al.^{6, 7} a procurarem outras fontes de EROs extra-mitocondrial e a sugerirem que o estresse oxidativo durante o exercício físico somente ocorre quando este é executado intensamente. Neste sentido, torna-se importante os dados de Helstein et al.^{55, 56} que demonstraram que o exercício exaustivo ativa o ciclo de degradação de purinas, um sítio responsável pela produção citoplasmática de EROs na fibra muscular. Além disso, Viña et al.^{6, 7} mostraram que a inibição da enzima xantina oxidase, por alopurinol, cuja atividade aumentada indica maior produção de $O_2^{\bullet -}$ intracelular, protege contra oxidação de GSH em humanos induzida pelo exercício. Neste mesmo estudo, observaram que o tratamento com essa droga protege contra aumento sérico de atividade das enzimas creatina quinase e aspartato aminotransferase em humanos pelo exercício, que são tradicionalmente indicadoras de lesão celular.

Outros fatores que podem contribuir para a elevação na formação de EROs pelo exercício físico, mas pouco estudados, são: 1) auto-oxidação de catecolaminas, 2) neutrófilos ativados no sítio inflamatório de músculos lesados, 3) ativação do sistema do citocromo p450 microsomal,

4) ativação do metabolismo peroxissomal e, 5) reações redox envolvendo ferro e cobre. Assim, pode-se dizer que EROs podem ser produzidas durante o exercício físico intenso a partir de várias fontes celulares potenciais, com algumas dessas sendo mais importantes dependendo do órgão a ser estudado, tempo específico de duração do esforço ou de sua intensidade, assim como o modo de exercício envolvido²⁰. Mesmo assim, a busca pelo processo mais importante de formação de EROs durante o exercício físico tem gerado resultados controversos, como descrito acima.

EXERCÍCIO FÍSICO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Do acima exposto, é possível especular que boa parte das lesões e inflamações teciduais, assim como alguns aspectos da fadiga resultante da prática regular de exercício físico intenso, tanto em animais como em humanos, podem apresentar algum envolvimento com formação intracelular de EROs⁵⁷. Dentre os principais efeitos do estresse oxidativo nesta condição, a peroxidação lipídica é a que vem sendo mais estudada. Peroxidação lipídica é provocada pelo ataque de qualquer espécie química com capacidade de abstrair hidrogênios de grupos metilênicos de ácidos graxos. Ácidos graxos com uma dupla ligação (ácido oléico) ou sem dupla ligação (ácidos graxos saturados) são mais resistentes a esse ataque, relativamente a ácidos graxos poli-insaturados, os quais estão presentes em grandes quantidades em membranas celulares. Nesta região, a peroxidação lipídica ocorre com frequência em organismos aeróbios, podendo ser elevada por EROs produzidas em excesso durante o exercício físico⁵⁸.

A iniciação da peroxidação lipídica se dá pela abstração de hidrogênios localizados próximos a duplas ligações. Após rearranjo molecular e na presença de O_2 , forma-se radical peroxil ($ROO^\bullet$). As principais reações deste radical são: 1) oxidação de colesterol, 2) ataque a proteínas de membranas e, 3) reação com outro $ROO^\bullet$. Além disso, lipoperóxidos podem reagir

com ferro e formar radical alcóxil ($\text{RO}^\bullet$). O potencial redox do par ácido graxo insaturado/ácido graxo insaturado-oxidado foi estimado em 0,6V (volts) no pH 7,0. Como o radical $^\bullet\text{OH}$, $\text{RO}^\bullet$ e $\text{HO}_2^\bullet$ ($\text{HO}_2^\bullet$: superóxido protonado) possuem potencial redox respectivamente de 2,31V, 1,60V e 1,06V, todos podem desencadear o processo de peroxidação lipídica⁵⁹.

Lesões oxidativas em membranas promovem perda de sua fluidez e liberação de proteínas intracelulares. Além disso, alguns produtos, incluindo dienos conjugados e malondialdeído (MDA) são liberados. O MDA pode ser quantificado pela reação envolvendo ácido tiobarbitúrico. Além do MDA, outras substâncias reagem com este ácido ("thiobarbituric acid reactive substances" [TBARS]), razão pela qual esta técnica é considerada inespecífica para a determinação de MDA. Como salientado por Halliwell⁴⁸ em extensa revisão sobre mensuração de EROs ou produtos de sua ação tecidual e celular, inexistem indicadores seguros sobre ocorrência de estresse oxidativo em organismos vivos, existindo a possibilidade de que, para o caso da peroxidação lipídica, o melhor indicador seja a isoprostanas- F_2 . Mas, como kits disponíveis ainda apresentam pouca segurança quanto à viabilidade da medida, o procedimento é questionável. Além disso, existem poucos trabalhos sobre exercício e estresse oxidativo em que esse indicador tenha sido mensurado de maneira sistemática.

Portanto, a quantificação das concentrações de TBARs dos tecidos e órgãos de animais é ainda considerada uma boa indicação dos efeitos das EROs *in vivo*, principalmente por ser de fácil realização. Salienta-se que lipoperóxidos resultantes da peroxidação lipídica são bastante reativos e promovem lesões oxidativas no organismo; além de serem mutagênicos, carcinogênicos e imunossupressores¹⁸. Benedetti et al.⁶⁰ demonstraram que produtos de peroxidação lipídica difundem-se através dos tecidos e causam lesões à distância. Confirmando esses dados, Suzuki et al.⁶¹ não notaram qualquer alteração nas concentrações plasmáticas de

lipoperóxidos de animais exercitados, mas nos cérebros seus valores estavam elevados. Além dos lipoperóxidos serem transferidos de um tecido para outro, são metabolizados por aqueles com alta capacidade oxidativa e pelo fígado⁶². A remoção dos produtos de peroxidação lipídica dos tecidos de animais em exercício pode ser, portanto, explicada em termos hemodinâmicos, porque o fluxo sanguíneo para o músculo esquelético aumenta durante o exercício prolongado intenso comparado ao repouso²⁶.

Outras vias alternativas de eliminação de lipoperóxidos são o suor e a urina⁶³. Contudo, como o exercício físico de longa duração promove desvio do fluxo sanguíneo da região esplênica para a musculatura esquelética, o consumo de TBARs pelo fígado ou sua eliminação pela urina podem ficar dificultados durante o exercício, sendo possivelmente favorecidos após o término do mesmo. Tais constatações podem contribuir para a ocorrência dos altos valores de TBARs detectados no plasma de atletas e animais após o exercício físico intenso, como será abordado a seguir.

Em animais não treinados, o exercício físico intenso aumenta a peroxidação lipídica dos seus tecidos. Por exemplo, Brady et al.⁶⁴ encontraram aumento significativo nas concentrações plasmáticas de TBARs de cavalos imediatamente após 10 min de corrida. Entretanto, Maughan et al.⁶⁵ demonstraram em humanos que as concentrações séricas de TBARs aumentam somente 6 h após 45 min de corrida com contração muscular excêntrica. Brady et al.⁶⁶ e Davies et al.²² demonstraram aumento de peroxidação lipídica em diversos tecidos de ratos não-treinados exercitados até a exaustão. Lovlin et al.⁶⁷ estudaram humanos exercitados a 40, 70 e 100% do VO_{2MAX} e encontraram correlação significativa entre as concentrações plasmáticas de lactato e TBARs. Os autores concluíram que o exercício até a exaustão resulta em aumento de lipoperóxidos sobre seus valores de repouso. Observaram ainda que no exercício a 40% do

VO_{2MAX} seus valores são menores relativos aos de repouso, o que sugere que o exercício submáximo reduz a peroxidação lipídica do organismo e o exercício máximo a eleva. Esses dados estão de acordo com os de Viña et al.^{6,7} já comentados acima.

Pode o treinamento físico prolongado atenuar os efeitos pró-oxidantes do exercício físico intenso? Vários pesquisadores encontraram baixas concentrações sanguíneas de lipoperoxídeos em animais e humanos treinados submetidos ao esforço físico intenso comparados com sedentários. Por exemplo, Quintanilha⁶⁸ relatou que ratos treinados em exercício prolongado apresentam menos hemólise, uma indicação de redução da peroxidação lipídica. Dernbach et al.⁶⁹ demonstraram que remadores que praticam treinamento físico prolongado intenso duas vezes ao dia, não apresentam valores sanguíneos altos de TBARs, sugerindo que o treinamento físico intenso não promove estresse oxidativo nesta modalidade esportiva. Kanter et al.⁷⁰⁻⁷⁴, estudando o efeito do exercício intenso prolongado encontraram no repouso correlação significativa entre as concentrações plasmáticas de TBARs e as enzimas creatina quinase e lactato desidrogenase.

Este mesmo grupo observou que as concentrações de TBARs e a atividade destas enzimas aumentam no soro após 50 milhas de corrida. Em função do aumento das suas concentrações no plasma após a corrida, os pesquisadores concluíram que houve lesão nas fibras musculares destes indivíduos durante o exercício, que foram creditadas às ações oxidativas teciduais provocadas pelo exercício intenso praticado. Os resultados contraditórios apresentados por esses grupos podem ser conseqüências das diferenças na intensidade do exercício utilizado, assim como do seu tipo empregado no estudo. Outros estudos comparando a extensão da peroxidação lipídica nos diversos tipos de fibras musculares, devido ao treinamento físico prolongado, demonstraram que as do tipo I são menos susceptíveis que as do tipo II. Entretanto, Jenkins²³ havia demonstrado em animais sedentários que a fibra muscular do tipo I apresenta valores de peroxidação lipídica

maiores que as do tipo II. Isto pode significar que as fibras musculares do tipo I não se ajustam adequadamente contra a ação de EROs formadas durante o treinamento físico intenso.

Pereira et al.^{75, 76} obtiveram incremento das concentrações de TBARs na porção branca do músculo gastrocnêmio (fibras do tipo II) e no músculo sóleo (fibras do tipo I) de ratos com treinamento físico envolvendo sessões diárias de natação de 1 h de duração, 5 dias semanais por dois meses com sobrecarga de 5% do peso corporal de rato preso na calda. Estes dados indicam, assim como os discutidos recentemente por Vina et al.^{6, 7} ou Lovlin⁶⁷ anteriormente, que a peroxidação lipídica é elevada nos diversos tipos de fibras musculares pelo exercício físico intenso prolongado. Mais recentemente, Souza Junior et al.⁷⁷ obtiveram resultados comprovando essa possibilidade com atletas submetidos ao exercício intenso em esteira rolante. Os atletas exibiram maior concentração plasmática de malondialdeído e queda concomitante na sua concentração em antioxidantes totais, paralelamente a mudanças pouco significativas na quimioluminescência urinária.

CONCLUSÕES

O exercício físico ou o treinamento prolongado promovem modificações metabólicas favoráveis à elevação da produção de EROs nas células de organismos aeróbios. As principais vias de formação de EROs no organismo estimuladas pelo exercício são o metabolismo mitocondrial e o ciclo de degradação de purinas. Em paralelo, observa-se queda nas defesas antioxidantes enzimáticas e químicas dos tecidos e órgãos de animais e humanos exercitados, ou resposta insuficiente para conferir proteção ao organismo. Como consequência, foi demonstrada elevação na peroxidação lipídica dos tecidos e órgãos de animais e humanos pelo exercício físico ou treinamento prolongado intensos. Com relação aos animais e humanos envelhecidos, que são

submetidos regularmente ao exercício físico, existem poucos trabalhos sobre o assunto, mas esses poucos dados apontam para a maior ocorrência de lesões oxidativas em seus tecidos nesta condição, principalmente se o exercício for intenso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Catling DC, Glein CR, Zahnle KJ, McKay CP. Why O₂ is required by complex life on habitable planets and the concept of planetary "oxygenation time". **Astrobiology** 2005;5(3):415-38.
2. Pryor WA, Houk KN, Foote CS, Fukuto JM, Ignarro LJ, Squadrito GL, et al. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 2006;291(3):R491-511.
3. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **J Neurochem** 2006;97(6):1634-58.
4. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiol** 2006;141(2):312-22.
5. Kopani M, Celec P, Danisovic L, Michalka P, Biro C. Oxidative stress and electron spin resonance. **Clin Chim Acta** 2006;364(1-2):61-6.
6. Vina J, Gimeno A, Sastre J, Desco C, Asensi M, Pallardo FV, et al. Mechanism of free radical production in exhaustive exercise in humans and rats; role of xanthine oxidase and protection by allopurinol. **IUBMB Life** 2000;49(6):539-44.
7. Vina J, Gomez-Cabrera MC, Lloret A, Marquez R, Minana JB, Pallardo FV, et al. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. **IUBMB Life** 2000;50(4-5):271-7.
8. Yu BP, Chung HY. Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging. **Mech Ageing Dev** 2006;127(5):436-43.

9. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, Takenaka K, Jinnouchi Y, Imaizumi T. Cardiovascular disease in diabetes. **Mini Rev Med Chem** 2006;6(3):313-8.
10. Vinson JA. Oxidative stress in cataracts. **Pathophysiology** 2006;13(3):151-62.
11. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem Biol Interact** 2006;160(1):1-40.
12. Simmons RA. Developmental origins of diabetes: the role of oxidative stress. **Free Radic Biol Med** 2006;40(6):917-22.
13. Simmons R. Developmental origins of adult metabolic disease. **Endocrinol Metab Clin North Am** 2006;35(1):193-204, viii.
14. Ohshima H, Sawa T, Akaike T. 8-nitroguanine, a product of nitrative DNA damage caused by reactive nitrogen species: formation, occurrence, and implications in inflammation and carcinogenesis. **Antioxid Redox Signal** 2006;8(5-6):1033-45.
15. Kawanishi S, Hiraku Y, Pinlaor S, Ma N. Oxidative and nitrative DNA damage in animals and patients with inflammatory diseases in relation to inflammation-related carcinogenesis. **Biol Chem** 2006;387(4):365-72.
16. Gago-Dominguez M, Castelao JE. Lipid peroxidation and renal cell carcinoma: further supportive evidence and new mechanistic insights. **Free Radic Biol Med** 2006;40(4):721-33.
17. Eaton P. Protein thiol oxidation in health and disease: techniques for measuring disulfides and related modifications in complex protein mixtures. **Free Radic Biol Med** 2006;40(11):1889-99.
18. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. **Am J Clin Nutr** 1993;57(5 Suppl):715S-724S; discussion 724S-725S.

19. Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, Hamilton KL. Dietary antioxidants and exercise. **J Sports Sci** 2004;22(1):81-94.
20. Evans WJ. Vitamin E, vitamin C, and exercise. **Am J Clin Nutr** 2000;72(2 Suppl):647S-52S.
21. Davies KJ. An overview of oxidative stress. **IUBMB Life** 2000;50(4-5):241-4.
22. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochem Biophys Res Commun** 1982;107(4):1198-205.
23. Jenkins RR. Free radical chemistry. Relationship to exercise. **Sports Med** 1988;5(3):156-70.
24. Dillard CJ, Litov RE, Savin WM, Dumelin EE, Tappel AL. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. **J Appl Physiol** 1978;45(6):927-32.
25. Abernethy PJ, Thayer R, Taylor AW. Acute and chronic responses of skeletal muscle to endurance and sprint exercise. A **review**. **Sports Med** 1990;10(6):365-89.
26. Alessio HM. Exercise-induced oxidative stress. **Med Sci Sports Exerc** 1993;25(2):218-24.
27. 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):1576-81.
28. Reid MB, Durham WJ. Generation of reactive oxygen and nitrogen species in contracting skeletal muscle: potential impact on aging. **Ann N Y Acad Sci** 2002;959:108-16.
29. Jackson MJ. Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptations to exercise. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci** 2005;360(1464):2285-91.

30. Halliwell B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? **Cardiovasc Res** 2000;47(3):410-8.
31. Halliwell B. How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem Soc Symp* 1995;61:73-101.
32. Aruoma OI, Kaur H, Halliwell B. Oxygen free radicals and human diseases. **J R Soc Health** 1991;111(5):172-7.
33. Jackson MJ, Edwards RH, Symons MC. Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. **Biochim Biophys Acta** 1985;847(2):185-90.
34. 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):2032-6.
35. Itoh H, Ohkuwa T, Yamamoto T, Sato Y, Miyamura M, Naoi M. Effects of endurance physical training on hydroxyl radical generation in rat tissues. **Life Sci** 1998;63(21):1921-9.
36. Sastre J, Asensi M, Gasco E, Pallardo FV, Ferrero JA, Furukawa T, et al. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. **Am J Physiol** 1992;263(5 Pt 2):R992-5.
37. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. **Med Sci Sports Exerc** 1993;25(2):225-31.
38. Balakrishnan SD, Anuradha CV. Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. **Cell Biochem Funct** 1998;16(4):269-75.
39. Ji LL. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. **Ann N Y Acad Sci** 2002;959:82-92.

40. Ji LL. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. **Free Radic Biol Med** 1995;18(6):1079-86.
41. Ji LL. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. **Exerc Sport Sci Rev** 1995;23:135-66.
42. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. **Can J Appl Physiol** 2004;29(3):245-63.
43. Genova ML, Bianchi C, Lenaz G. Supercomplex organization of the mitochondrial respiratory chain and the role of the Coenzyme Q pool: pathophysiological implications. **Biofactors** 2005;25(1-4):5-20.
44. Genova ML, Pich MM, Biondi A, Bernacchia A, Falasca A, Bovina C, et al. Mitochondrial production of oxygen radical species and the role of Coenzyme Q as an antioxidant. **Exp Biol Med (Maywood)** 2003;228(5):506-13.
45. Genova ML, Ventura B, Giuliano G, Bovina C, Formiggini G, Parenti Castelli G, et al. The site of production of superoxide radical in mitochondrial Complex I is not a bound ubiquinone but presumably iron-sulfur cluster N2. **FEBS Lett** 2001;505(3):364-8.
46. Kussmaul L, Hirst J. The mechanism of superoxide production by NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) from bovine heart mitochondria. **Proc Natl Acad Sci U S A** 2006;103(20):7607-12.
47. Sedensky MM, Morgan PG. Mitochondrial respiration and reactive oxygen species in mitochondrial aging mutants. **Exp Gerontol** 2006;41(3):237-45.
48. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **Br J Pharmacol** 2004;142(2):231-55.

49. Loschen G, Azzi A. On the formation of hydrogen peroxide and oxygen radicals in heart mitochondria. **Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab** 1975;7:3-12.
50. Boveris A. Mitochondrial production of superoxide radical and hydrogen peroxide. **Adv Exp Med Biol** 1977;78:67-82.
51. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiol Rev** 1979;59(3):527-605.
52. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Proc Soc Exp Biol Med** 1999;222(3):283-92.
53. Bejma J, Ramires P, Ji LL. Free radical generation and oxidative stress with ageing and exercise: differential effects in the myocardium and liver. **Acta Physiol Scand** 2000;169(4):343-51.
54. Duarte JA, Appell HJ, Carvalho F, Bastos ML, Soares JM. Endothelium-derived oxidative stress may contribute to exercise-induced muscle damage. **Int J Sports Med** 1993;14(8):440-3.
55. Hellsten Y, Tullson PC, Richter EA, Bangsbo J. Oxidation of urate in human skeletal muscle during exercise. **Free Radic Biol Med** 1997;22(1-2):169-74.
56. Hellsten Y. Xanthine dehydrogenase and purine metabolism in man. With special reference to exercise. **Acta Physiol Scand Suppl** 1994;621:1-73.
57. Atalay M, Lappalainen J, Sen CK. Dietary antioxidants for the athlete. **Curr Sports Med Rep** 2006;5(4):182-6.
58. Basu S. Isoprostanes: novel bioactive products of lipid peroxidation. **Free Radic Res** 2004;38(2):105-22.

59. de Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. **Free Radic Biol Med** 1999;26(1-2):202-26.
60. Benedetti A, Casini AF, Ferrali M, Comporti M. Effects of diffusible products of peroxidation of rat liver microsomal lipids. **Biochem J** 1979;180(2):303-12.
61. Suzuki M, Katamine S, Tatsumi S. Exercise-induced enhancement of lipid peroxide metabolism in tissues and their transference into the brain in rat. **J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)** 1983;29(2):141-51.
62. Jenkins RR. Exercise, oxidative stress, and antioxidants: a review. **Int J Sport Nutr** 1993;3(4):356-75.
63. Draper HH, Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. **Xenobiotica** 1990;20(9):901-7.
64. Brady PS, Ku PK, Ullrey DE. Lack of effect of selenium supplementation on the response of the equine erythrocyte glutathione system and plasma enzymes to exercise. **J Anim Sci** 1978;47(2):492-6.
65. Maughan RJ, Donnelly AE, Gleeson M, Whiting PH, Walker KA, Clough PJ. Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. **Muscle Nerve** 1989;12(4):332-6.
66. Brady PS, Brady LJ, Ullrey DE. Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat. **J Nutr** 1979;109(6):1103-9.
67. Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. Are indices of free radical damage related to exercise intensity. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol** 1987;56(3):313-6.

68. Quintanilha AT. Effects of physical exercise and/or vitamin E on tissue oxidative metabolism. **Biochem Soc Trans** 1984;12(3):403-4.
69. Dernbach AR, Sherman WM, Simonsen JC, Flowers KM, Lamb DR. No evidence of oxidant stress during high-intensity rowing training. **J Appl Physiol** 1993;74(5):2140-5.
70. Kanter MM, Hamlin RL, Unverferth DV, Davis HW, Merola AJ. Effect of exercise training on antioxidant enzymes and cardiotoxicity of doxorubicin. **J Appl Physiol** 1985;59(4):1298-303.
71. Kanter M. Free radicals and exercise: effects of nutritional antioxidant supplementation. **Exerc Sport Sci Rev** 1995;23:375-97.
72. Kanter M. Free radicals, exercise and antioxidant supplementation. **Proc Nutr Soc** 1998;57(1):9-13.
73. Kanter MM. Free radicals, exercise, and antioxidant supplementation. **Int J Sport Nutr** 1994;4(3):205-20.
74. 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):965-9.
75. Pereira B, Costa Rosa LF, Safi DA, Medeiros MH, Curi R, Bechara EJ. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. **Physiol Behav** 1994;56(5):1095-9.
76. Pereira B, Rosa LF, Safi DA, Guimaraes AR, Bechara EJ, Curi R. Antioxidant enzyme activities in the lymphoid organs and muscles of rats fed fatty acids-rich diets subjected to prolonged physical exercise-training. **Physiol Behav** 1994;56(5):1049-55.

77. Souza Junior T, Oliveira P, Pereira B. Exercício físico e estresse oxidativo. Efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. **Rev Bras Med Esporte** 2005;11(1):91-96.