



**UFSM - CEFD**

**PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM ATIVIDADE FÍSICA DESEMPENHO  
MOTOR E SAÚDE**

**EFEITO AGUDO DO TRABALHO AERÓBICO INTERMITENTE  
NO ESTRESSE OXIDATIVO E CONTAGEM DE CÉLULAS  
SANGUÍNEAS DE MULHERES JOVENS TREINADAS**

Por: GUILHERME SAENGER

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Amélia Roth

Santa Maria, Outubro de 2010.

**Resumo:** As células produzem continuamente os radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs), ao qual são neutralizados por um sistema defensivo do nosso organismo, e quando ocorre esse desequilíbrio, surge o que chamamos de estresse oxidativo. O presente artigo investigou o efeito agudo do trabalho aeróbico intermitente sobre o estresse oxidativo e contagem de células sanguíneas de mulheres jovens treinadas. Participaram do estudo 17 mulheres. Analisaram-se associações do hemograma, níveis de TBARS, catalase e GSH. Observaram-se as diferenças entre os grupos, sendo encontrada diferença na atividade da enzima catalase ( $p=,017$ ) para o grupo praticante, ou seja, existe diferença estaticamente significativa entre a catalase de repouso e logo após o treino ( $p= ,013$ ). Esta diferença também foi observada nos níveis de TBARS ( $p=0,02$ ), das praticantes em repouso e logo após o treino ( $p= 0,007$ ) e entre logo após o treino e a recuperação ( $p=0,004$ ). No entanto não foi observada diferença estatisticamente significativa com o grupo praticante no GSH ( $p=0,082$ ). Conclui-se que ocorreu um estresse oxidativo em um treinamento agudo.

**Palavras-chave:** Sangue, estresse oxidativo, esforço físico.

**Abstract:** The cells continuously produce free radicals and reactive oxygen species (ROS), which are neutralized by a defensive system in our body, and when this imbalance occurs, there is what we call oxidative stress. This article investigated the effect of acute intermittent aerobic work on oxidative stress and blood count of young women trained. The study included 17 women. We analyzed associations of the CBC TBARS, catalase and GSH. Observed differences between the groups, with no difference in catalase activity ( $p =, 017$ ) for the practitioner group, ie, there was statistical significant difference between the catalase and rest immediately before exercise ( $p =, 013$ ). This difference was also observed in the levels of TBARS ( $p = 0.02$ ), the practitioners at rest and after training ( $p = 0.007$ ) and between right after the workout and recovery ( $p = 0.004$ ). However there was no statistically significant difference with the group practicing in GSH ( $p = 0.082$ ). We conclude that oxidative stress occurred in an acute training.

**Key Words:** Blood, Oxidative Stress, Physical Exertion

## INTRODUÇÃO

Conforme Urso e Clarkson (2003), as células produzem continuamente os radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs), como parte do processo metabólico. Esses radicais livres são neutralizados por um elaborado sistema de defesa antioxidante composto de enzimas como a catalase, glutathiona peroxidase (GSH), (URSO e Clarkson 2003). Pode-se destacar no estudo de Neto et al (2007) um aumento significativo na atividade da enzima Catalase e da substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), ao qual é um biomarcador de estresse oxidativo sugerindo alterações posteriores após a instalação do estresse.

Para Urso e Clarkson (2003) o exercício físico pode produzir um desequilíbrio entre as EROs e antioxidantes, conhecido como estresse oxidativo. O estresse oxidativo, segundo Stehbens (2004), é o termo geralmente usado para descrever os danos causados pelas EROs nas moléculas ou mesmo no organismo como um todo.

Segundo Ji (1999), os exercícios extenuantes ou de longa duração estão relacionados ao dano tecidual e podem causar estresse oxidativo, uma vez que, o exercício aumenta o consumo de oxigênio e causa um distúrbio na homeostase pró e antioxidante intracelular. Conforme Ji (1999), as enzimas antioxidantes têm demonstrado grandes adaptações ao exercício agudo, sendo que o aumento da atividade dessas enzimas deve-se a uma elevação na produção de Eros (JI 1990).

De acordo com Baganha (2009), o exercício físico tem um potencial modulador sobre as variáveis imunológicas. Segundo este mesmo autor a diminuição da resposta imune é caracterizada por uma menor capacidade defensiva do organismo aumentando a suscetibilidade a infecções. Para Nóbrega (2005), o treinamento físico de intensidade moderada, melhora os sistemas de defesa, enquanto o treinamento intenso provoca imunossupressão.

Diante das lacunas presentes na literatura, a relação entre o estresse oxidativo e contagem de células sanguíneas não está descrita com clareza. Logo se tornou relevante a análise desta amostra, pois o grupo apresenta grande envolvimento com o treinamento aeróbico.

Sendo assim o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito agudo do trabalho aeróbico intermitente sobre o estresse oxidativo e contagem de células sanguíneas de mulheres jovens treinadas em um grupo de praticantes de bike indoor.

## **MÉTODO**

### Grupo de Estudo

O grupo de estudo do presente artigo foi composto por 17 mulheres, sendo 8 praticantes da modalidade de Spinning, a pelo menos 6 meses e 9 sedentárias, com média de idade de 27,11 anos. Foi utilizado como critério de exclusão indivíduos com dados incompletos, pessoas com doenças cardiovasculares, fumantes, hipertensos e praticantes de outras atividades concomitantes.

### Procedimentos Gerais

As mulheres, após receberem informações sobre os objetivos do presente estudo, e procedimentos para a coleta de dados, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa pela Universidade Federal de Santa Maria e segue as normas da resolução 196/96 do Conselho nacional de Saúde, sobre pesquisa envolvendo seres humanos. Para as mulheres praticantes e sedentárias que aceitaram participar do presente estudo, foi verificado em repouso o IMC, RCQ, para assim poder padronizar o grupo de mulheres e foi realizada uma coleta de sangue. Após esse procedimento inicial, as mulheres do grupo praticante se submeteram a uma sessão de Spinning, com duração de 50 minutos (TABELA 1), através de um trabalho aeróbico intermitente, sendo as frequências conferidas pelos polares utilizados pelos praticantes. Imediatamente após o término da sessão ocorreu à segunda coleta de sangue, e após 45 minutos, a última coleta de sangue para o grupo praticante.

Tabela 1: Protocolo de ciclismo indoor

Fase da Aula	Tempo (min)	Intensidade (%FCMax)	Posição	Cadência
Aquecimento	5	60-75	1	90-110
Etapa Inicial	10	75-80	2	80-90
Etapa Intermediária	20	80-85	2	60-80
Etapa Final	10	75-80	2	80-90
Recuperação	5	75-65	1	50

## INSTRUMENTOS

Para verificação do estado nutricional utilizou-se as seguintes medidas antropométricas: massa corporal e estatura. Para a verificação do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares utilizou-se das medidas de circunferência: cintura. A análise sanguínea foi realizada em dois momentos: no primeiro momento o material colhido foi encaminhado ao laboratório de bioquímica da UFSM que verificou como indicadores de stress oxidativo: TBARS, catalase e GSH. No segundo momento o material foi encaminhado ao laboratório de análises químicas (LABMED), que verificou o perfil lipídico (colesterol HDL e LDL, triglicerídeos e a contagem de células sanguíneas).

### *Coleta do Material Biológico*

O sangue foi coletado em tubos com e sem sistema anticoagulante. O soro foi obtido por centrifugação a 1800 xg por 10 min. e o precipitado foi descartado. Em seguida, o soro foi utilizado para determinar os parâmetros bioquímicos: glicemia, perfil lipídico, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e proteína carbonil. Para tióis não-protéicos, o sangue foi coletado com EDTA como anticoagulante. A amostra foi então centrifugada (1800 xg por 10 min.) e o plasma foi utilizado para determinar tióis plasmáticos. CAT foi determinado utilizando sangue total coletado em tubos citratados, diluído em 1:10 em solução salina. As amostras foram mantidas a -80 ° C até a análise. Para as determinações hematológicas o sangue total com EDTA foi utilizado e a contagem foi realizada imediatamente após a coleta.

### *Determinações hematológicas*

Determinações quantitativas dos glóbulos brancos (WBC), hemoglobina (HGB), plaquetas (PLT), linfócitos (LYM), obtido por punção venosa foram realizadas com um analisador Coulter STKS-(Miami, E.U.A.).

#### *Determinação da Peroxidação Lipídica*

A peroxidação lipídica foi estimada através da mensuração dos níveis de TBARS em amostras de soro de acordo com o método modificado de Jentzsch et al. (1996). Resumidamente, 0,2 ml de soro foram adicionados à mistura de reação, contendo 1 ml de 1% de ácido ortofosfórico, 0,25 ml de solução alcalina com ácido tiobarbitúrico TBARS (volume final de 2,0 ml), seguido por 45 min. de aquecimento a 95 ° C. Após o resfriamento, as amostras e os padrões de malondialdeído foram lidas a 532 nm contra o branco da curva padrão. Os resultados foram expressos como MDA nanomole por mililitro de plasma.

#### *Determinação de tios não-protéicos*

Tióis não protéicos foram testados em plasma pelo método de Ellman (1959). Alíquotas (0,1 ml) de plasma foram adicionadas a um tampão fosfato 0,3 mols / l (0,85 ml), pH 7,4 e a reação foram lida em 412 nm após a adição de 10 mm 5-5'-dithio-bis (2-nitrobenzóico ácido) (DTNB) (0,05 ml). Os resultados foram expressos em mmol / ml de plasma.

#### *Atividade da Catalase (CAT)*

A determinação da atividade da CAT foi realizada de acordo com o método de Nelson & Kiesow (1972) modificado. Este ensaio envolve a alteração da absorbância a 240 nm, devido à decomposição CAT dependente de peróxido de hidrogênio. Uma alíquota (0,02 ml) de sangue foi homogeneizada em tampão fosfato de potássio, pH 7.0. A determinação espectrofotométrica foi iniciada pela adição de 0,07 ml de uma solução aquosa de peróxido de hidrogênio 0,3 mol / l. A variação de absorbância a 240 nm foi medida por 2 min. A atividade de CAT foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ( $\text{cm}^2/\mu \text{ mole}$  0,0436) e os resultados foram expressos como pico moles por miligrama de proteína.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram realizadas análises descritivas (médias e desvios padrões) para as variáveis estudadas, sendo que estas apresentaram distribuição normal verificada através do teste de normalidade Shapiro Wilk. Foi utilizado o teste Anova e teste t para amostra independente para verificar a diferença entre as médias de pré e pós teste, e a correlação de Pearson para verificar as associações entre as variáveis. Nas análises considerou-se como nível de probabilidade de significância  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

As características descritivas da amostra investigada de acordo com o grupo podem ser observadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Características descritivas da amostra estudada com valores expressos em média e desvio padrão de acordo com o grupo.

Variável	Grupo 1 (Sedentárias)	Grupo 2 (Praticantes)	p-valor
Idade (anos)	25,44 (2,29)	29 (3,50)	0,024*
Peso Corporal (Kg)	58,6 (10,98)	59,65 (6,49)	0,817
Estatuta (cm)	1,67 (0,04)	1,63 (0,05)	0,134
Cintura (cm)	71,55 (4,63)	72,87 (8,14)	0,683
Quadril (cm)	100,11 (3,05)	98 (4,50)	0,271
IMC (kg.m <sup>-2</sup> )	22,09 (1,43)	22,49 (3,16)	0,738
RCQ (cm)	0,71 (0,04)	0,74 (0,06)	0,298

\*Diferença Estatisticamente significativa ao nível de 5%.

Na análise bioquímica observou-se diferença na atividade da enzima Catalase ( $p=,017$ ) para o grupo praticante, ou seja, existe diferença estatisticamente significativa entre a Catalase de repouso e logo após o treino ( $p=,013$ ) havendo uma diminuição das médias (TABELA 2). Esta diferença também foi observada nos níveis de TBARS ( $p=0,02$ ), ou seja, foi encontrada uma diferença nos níveis de TBARS das praticantes em repouso e logo após o treino ( $p= 0,007$ ) e entre logo após o treino e a recuperação ( $p=0,004$ ) ocorrendo um aumento nas médias e na fase de recuperação uma diminuição (TABELA 2). No entanto não foi observada diferença estatisticamente significativa entre o grupo praticante no GSH ( $p=0,082$ ).

**Tabela 2.** Valores Médios da atividade das enzimas Catalase, níveis de TBARS e GSH para o grupo praticante.

Variável	Repouso	Após ao treino	Recuperação	p
CATALASE	9,43	6,67	-	,013*
TBARS	4	7,8		,007*
TBARS		7,8	3,92	,004*
GSH	,22	,27	,30	,082

\*Diferença Estatisticamente significativa ao nível de 5%.

**Tabela 3.** Valores Médios da atividade das enzimas Catalase, níveis de TBARS e GSH para o grupo sedentário.

Variável	Catalase	TBARS	GSH
Média Repouso	,37	3,81	2,43

Entre os grupos (sedentário e praticante) pode-se perceber diferença estatisticamente significativa apenas na atividade da enzima antioxidante Catalase de repouso ( $p=,018$ ), ou seja, existe diferença da atividade da enzima Catalase das sedentárias com a Catalase das praticantes. Na diferença do GSH entre o grupo sedentário e o grupo praticante em repouso não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ( $p=,702$ ). Nos níveis TBARS também não foi obtida diferença entre os grupos ( $p=,112$ ).

Na análise do Hemograma entre os grupos (sedentárias e praticantes) não foi achado diferença estatisticamente significativas para as plaquetas ( $p=,859$ ), leucócitos ( $p=,651$ ) e linfócitos ( $p=,134$ ). Para o grupo praticante não foi observada diferença significativa nos valores, leucócitos ( $p=,166$ ), Linfócitos ( $p=0,069$ ) em repouso, logo após ao treino e na fase de recuperação. Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa pode-se observar que as médias dos Linfócitos sofreram alterações (TABELA 4).

**Tabela 4.** Valores Médios Linfócitos para o grupo praticante.

Variável	Média		
	Repouso	Após ao treino	Recuperação
Linfócitos	3240	4202	2339

## DISCUSSÃO

No estudo de Derez et al (2007), com indivíduos HIV positivo, observou-se que o exercício físico gerou aumento nos níveis de GSH, Catalase e outras enzimas antioxidantes. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Castro (2003), em que houve mudanças significativas na atividade da Catalase durante um treino aeróbico, vindo em oposição ao presente estudo, em ocorreu a diminuição dos níveis de catalase, e não se encontrou diferenças no GSH. Essa diferença essa pode ter ocorrido pelas populações específicas tanto no estudo de Castro (homens) como no do estudo de Derez com pessoas HIV positivas, ao qual ingerem um coquetel de remédios diários que podem ter modificado os achados.

Contraopondo-se aos resultados do presente estudo, Neto et al (2008) observaram diferenças significativas entre o grupo praticante e o grupo sedentário da atividade da enzima Catalase, assim como no presente estudo em que existe diferença significativa, sendo o nível da enzima catalase ser maior no grupo praticante.

No experimento de Ferreira et al (1999), com 22 homens saudáveis expostos ao Hidróxido de Ferro coloidal in vitro, não houve mudanças no GSH e nos níveis de TBARS, apesar do experimento ter ocorrido com homens, ocorreu o mesmo com o antioxidante GSH do presente estudo apenas diferindo nos níveis do TBARS. Essa diferença ocorreu pela exposição ao Hidróxido de Ferro, ao qual não foi feito no presente estudo.

Já no experimento com ratos de Latha e Pari (2004), também ocorreu o aumento nos níveis de TBARS e a diminuição da enzima GSH, este aumento nos níveis de TBARS também foi observado nos resultados do presente estudo. No estudo de Schettert (2009), o nível de TBARS foi o único com aumento significativo, em diferentes tipos de treinamento, corroborando os achados no presente estudo.

Schneider et al (2009), não encontrou não encontrou valores significativos para o GSH após o treino e na atividade da enzima antioxidante Catalase, em oposição ao presente estudo apenas para a catalase, que foi encontrado uma diminuição de suas médias após o treino, diferença essa provavelmente porque no estudo de Schneider et al, eles utilizaram um treino de longa duração.

Nos resultados encontrados no presente estudo não foi possível verificar para este grupo de praticantes alterações nos níveis de leucócitos e linfócitos, apenas diferindo nas médias. Contrapondo-se a esses achados, o estudo de Natale et al (2003) encontrou mudanças nos Leucócitos após o exercício físico, assim como no estudo de Baganha (2009), que além de achar mudanças nos Leucócitos, identificou mudanças nos Linfócitos em um grupo de adultos maratonistas ciclistas, diferença essa pela população específica.

## **CONCLUSÃO**

No presente estudo, pode-se analisar que houve um estresse oxidativo durante treinamento aeróbico agudo, pois nos níveis de TBARS houve um aumento durante o treino e uma diminuição no período de recuperação maior que o período de repouso, e na atividade da enzima Catalase houve uma diminuição significativa durante o treino, indicando que ocorreu um estresse oxidativo, ao qual a enzima não conseguiu suprir as necessidades do corpo.

Outro ponto importante foi o processo das defesas do organismo em que houve diferenças nas médias dos Linfócitos, com um aumento durante o treino, e uma diminuição no período de recuperação maior que no período de repouso, indicando que as defesas se estabilizaram.

Torna-se relevante realizar novas pesquisas que utilizem outras variáveis para verificar os níveis de estresse oxidativo e formas de analisar o sistema imunológico frente à prática de bike indoor.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAGANHA, R.J.; Modulações no Leucograma, contagem de linfócitos T CD4+ e CD8+ e níveis séricos de cortisol após treinamento em ciclistas maratonistas. 2009 Dissertação (Pós-graduação Stricto Sensu em Educação Física) Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP, 2009. Disponível em:

CASTRO, M.A.C.; Estudo comparativo da produção de radicais livres e catalase nos exercícios de intensidade e duração moderadas. 2003. Dissertação (Pós-Graduação em “Stricto Sensu” Em Educação Física) Universidade Católica de Brasília. 2003.

DEREZ, L. F.; LAZZAROTTO, A. R.; MANFROI, W.C.; GAYA, A.; SPRINZ, E.; OLIVEIRA, A.R.; DALLÁGO, P. O estresse oxidativo e o exercício físico em indivíduos HIV positivo. **Rev. Bras Med. Esporte** \_ Vol. 13, Nº 4 – Jul/Ago, 2007.

FERREIRA, A.L.A.; MACHADO, P.E.A.; MATSUBARA L.S. Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and glutathione levels in human erythrocytes exposed to colloidal iron hydroxide *in vitro*. **Braz J Med. Biol. Res** vol.32 n.6 Ribeirão Preto June 1999.

JI, I.I.; Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise. **Experimental Biology and Medicine** vol. 235 nº 9. 1999.

LATHA, M.; PARI, L. Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* on blood glucose, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes. **Braz J Med. Biol. Res.** vol.37 no. 4 Ribeirão Preto Apr. 2004.

LINKE, A.; ADAMS, V.; SCHULZE, P.C.; ERBS, S.; GIELEN, S.; FIEHN, E.; WINKLER, S.M.; SCHUBERT, A.; SCHULER, G.; HAMBRECHT, R.; Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. **Circulation.** **2005**; 111:1763-70.

NATALE, V.M.; BRENNER, I. K.; MOLDOVEANU, A.I.; VASILIOU, P.; SHEK, P.; SHEPAHARD, R.J. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. **São Paulo Med. J.** vol.121 no.1 São Paulo 2003.

NETO, J.M.F.A.; PILATTI, L.S.; FILHO, J.P.A.; MAGALHÃES, N.P.; Cinética de marcadores de estresses oxidativo e fisiológico em condição de corrida exaustiva. **Rev. Br. Ed. Fis., Dep., Ócio y Danza**, v. 2, n. 2, p. 56-68, jun. 2007.

NETO, J.M.F.A.; RIVERA, R.J.B.; CALVI, R.G.; RAFFA, M.F.; DONADON, C.C.; PEREIRA, A.G.; MELO, P.S. Níveis comparativos de estresse oxidativo em camundongos em duas situações do limite orgânico: *overreaching* induzido por treinamento de natação e câncer. **Rev. Bras Med. Esporte** vol.14 no. 6 Niterói Nov./Dec. 2008.

NOBREGA A.C.; The subacute effects of exercise: concept, characteristics, and clinical implications. **Exerc. Sport Sci Rev.** **2005**;33:84-7.

SCHETTERT, S.D.; Efeito do exercício agudo de curta duração na atividade da enzima  $\delta$ -aminolevulinato desidratase em humanos. 2009. Dissertação (Pós-graduação em Bioquímica Toxicológica) Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, 2009. Disponível em:

STEBENS, W.E.; Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. **Exp Mol Pathol.** **2004**; 77:121-32.

URSO M.L.; CLARKSON P.M.; Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicol.** **2003**;189:41-54.