

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:**  
**Cardiologia e Ciências Cardiovasculares**

**A resposta do estresse oxidativo e do perfil imunológico em portadores e não portadores do HIV participantes de uma sessão de exercícios aeróbio e resistido de intensidade moderada**

**Luís Fernando Deresz**

**Orientador: Prof. Dr. Pedro Dall'Ago**

**Porto Alegre**

**2008**

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:**  
**Cardiologia e Ciências Cardiovasculares**

**A resposta do estresse oxidativo e do perfil imunológico em portadores e não portadores do HIV participantes de uma sessão de exercícios aeróbio e resistido de intensidade moderada**

**Luís Fernando Deresz**

*Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Cardiovasculares, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares.*

**Orientador: Prof. Dr. Pedro Dall'Ago**

**Porto Alegre**

**2008**

**Decido todo o mérito deste trabalho**

à toda a minha família, uma singela  
forma de retribuir o amor e o carinho  
dedicados a mim.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus

A minha mãe Rosa por ser fonte da minha determinação e sempre ter me estimulado na busca dos meus objetivos independente das dificuldades de serem alcançados. Ao meu pai Francisco que não conteve esforços para que eu pudesse realizar essa etapa da minha vida. As minhas irmãs Lígia, minha segunda mãe, pela companhia, incentivo e carinho, e Rochele, que mesmo distante, me apoiou incondicionalmente nessa trajetória e a Vó Sophia e o Vô Arthur pelo carinho demonstrado. Vocês me mostram na prática o verdadeiro significado das palavras família e amor.

Ao meu orientador Prof. Pedro Dall'Ago pela oportunidade de trabalho e aprendizado no meio acadêmico. Pela confiança depositada durante toda essa etapa e por mostrar que pesquisa e caráter podem andar lado a lado.

Ao Prof. Alexandre Lazzarotto por abrir as portas do seu projeto e dar crédito a uma idéia em que poucos acreditavam. Pelo incansável incentivo e ensinamentos profissionais e pessoais.

Ao Dr. Eduardo Sprinz pela oportunidade de trabalho e aprendizado em HIV/AIDS.

A Prof.<sup>a</sup> Daniela Freitas, a Biomédica Andréa Kramer e ao Farmacêutico Alexandre Maslinkiewicz pela amizade e fundamental ajuda na realização das análises e discussão dos resultados de estresse oxidativo.

Aos colegas e grandes amigos do Pró-Vida, Fabi Lara, Fabi, Greice, Rúbia, Gustavo e César pela contribuição nas coletas e pela amizade no dia-a-dia.

Ao sempre prestativo colega Daniel pelo companheirismo e ensinamento científico.

As amigas Ana Carolina e Janáina pela revisão do artigo em inglês.

Ao Prof. Alvaro Reischak de Oliveira por disponibilizar o ergoespirômetro e ao colega Giovani Cunha pela ajuda nas coletas e discussão dos resultados

A competente Sirlei, secretária da Pós-Graduação em Cardiologia, por resolver os problemas burocráticos com a rapidez que só ela é capaz.

Ao pessoal do GPPG, em especial a Marta pela disponibilidade e presteza nos serviços realizados.

Ao pessoal do IPB LACEN pelas análises imunológicas e ao laboratório Weinmann por fornecer os hemogramas.

Aos funcionários do LAPEX e ao André da secretaria da Pós da ESEF-UFRGS pela ajuda em dias de coleta.

Aos participantes do pró-vida por mostrar o prazer de viver mesmo em situações adversas e aos voluntários do grupo controle por participarem e me estimularem nesse trabalho.

Sem a contribuição e estímulo de todos citados, este trabalho e importante fase da minha vida seria impossível de ser concluída, sou eternamente grato a todos.

*"Mesmo desacreditado e ignorado por todos, não posso desistir, pois pra mim, vencer é nunca desistir"*

**Albert Einstein**

(1879-1955)

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>8</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE ANEXOS.....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>11</b>
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>13</b>
<b>1. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
1.1 INTRODUÇÃO .....	13
1.2 RADICAIS LIVRES, ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E ESTRESSE OXIDATIVO.....	15
1.2.1 <i>Formação dos radicais livres e espécies reativas de oxigênio e defesa antioxidante.....</i>	<i>16</i>
1.3 A INFECÇÃO PELO HIV E O ESTRESSE OXIDATIVO .....	18
1.4 O ESTRESSE OXIDATIVO E A TERAPIA ANTI-RETROVIRAL COMBINADA .....	22
1.5 TREINAMENTO FÍSICO EM PORTADORES DO HIV .....	25
1.6 EXERCÍCIO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO .....	31
REFERÊNCIAS .....	37
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>46</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>46</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	46
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	46
<b>ARTIGO ORIGINAL .....</b>	<b>47</b>
RESUMO .....	48
INTRODUÇÃO.....	49
MATERIAIS E MÉTODOS .....	50
RESULTADOS .....	54
DISCUSSÃO.....	57
REFERÊNCIAS .....	61

**Lista de figuras**

Figura 1 – Atividade da GST (A) e CAT (B).....	57
Figura 2 – Níveis de TBARS (A) e GSht (B).....	57



**Lista de tabelas**

Tabela 1 – Características dos participantes do estudo.....	55
Tabela 2 – Valores das variáveis imunológicas.....	56

**Lista de anexos**

Anexo A – Artigo em inglês.....	66
Anexo B – Termo de consentimento livre e esclarecido – Casos .....	88
Anexo C – Termo de consentimento livre e esclarecido – Controles.....	92

## Lista de abreviaturas

- 8-oxoG – 8-oxo-7,8-diidro-2'-deoxiguanosina
- AGL – ácidos graxos livres
- CAT – catalase
- DNA – ácido desoxirribonucléico
- EO – estresse oxidativo
- ERO – espécies reativas de oxigênio
- FC – frequência cardíaca
- GCS –  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase
- GMP-c – guanosina monofosfato cíclico
- GPx – glutaciona peroxidase
- GSH – glutaciona reduzida
- GSHt – glutaciona total
- GSSG – dissulfeto de glutaciona ou glutaciona oxidada
- GST – glutaciona S-transferase
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – peróxido de hidrogênio
- HDL – high-density lipoprotein - lipoproteína de alta densidade
- HIV – *human immunodeficiency virus* - vírus da imunodeficiência humana
- HO-1 – heme-oxigenase 1
- IL – interleucina
- IMC – índice de massa corporal
- iNOS – óxido nítrico sintetase induzível
- IP – inibidor de protease
- ITRN – inibidores da transcriptase reversa análogos aos nucleosídeos
- ITRNN – inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos
- LDL – low-density lipoprotein - lipoproteína de baixa densidade
- MDA – malondialdeído
- MnSOD- superóxido dismutase dependente de manganês
- NF- $\kappa$ B - *nuclear factor  $\kappa$ B* - fator de transcrição nuclear  $\kappa$ B
- NO – *nitric oxide* – óxido nítrico
- RL – radicais livres
- RNA<sub>m</sub> – ácido ribonucléico mensageiro

SIDA – síndrome da imunodeficiência adquirida

SOD – superóxido dismutase

TARV – terapia anti-retroviral combinada

TBARS – *thiobarbituric acid-reactive substances* – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TNF- $\alpha$  – *tumor necrosis factor- $\alpha$*  – fator de necrose tumoral- $\alpha$

VO<sub>2max</sub> – consumo máximo de oxigênio

VO<sub>2pico</sub> – pico do consumo de oxigênio

## Capítulo 1

### 1. Revisão de literatura

#### 1.1 Introdução

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) é o estágio final da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (*Human Immunodeficiency Virus – HIV*). O contágio ocorre pelas vias sexual, parenteral e vertical <sup>1-3</sup> e tem como principal característica a imunossupressão progressiva que predispõe o indivíduo ao desenvolvimento de doenças oportunistas que, se não tratadas, levam-no inevitavelmente ao óbito <sup>1,3</sup>. O HIV diferencia-se em tipo 1 e 2, sendo que o HIV-1 é o mais patogênico e o mais prevalente no mundo enquanto que o HIV-2 é endêmico na África Ocidental, disseminando-se pela Ásia <sup>1</sup>.

Atualmente existem 33,2 (30,6–36,1) milhões de pessoas vivendo com HIV no mundo <sup>2</sup> e no Brasil, até junho de 2007, foram notificados 474.273 casos <sup>4</sup>. Hoje, a SIDA encontra-se em um processo de estabilização, embora em patamares elevados <sup>4</sup>.

Com a evolução do quadro clínico decorrente da infecção pelo HIV, alguns indivíduos apresentam alterações fisiológicas entre as quais se destaca o estresse oxidativo (EO). Estresse oxidativo é o termo geralmente usado para descrever os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) nas moléculas ou mesmo no organismo como um todo. Em portadores do HIV, o EO é caracterizado por baixas concentrações de antioxidantes plasmáticos e teciduais, bem como elevados produtos da lipoperoxidação <sup>5</sup>. A infecção pelo HIV afeta principalmente as células imunológicas e, secundariamente, o hospedeiro em outros órgãos devido à privação de micronutrientes e antioxidantes. Este quadro clínico potencializa a replicação do HIV e conseqüentemente a progressão da doença <sup>6</sup>. Além disso, o EO combinado à infecção pelo HIV parece estar associado a maior prevalência de doença cardiovascular em portadores da SIDA <sup>7</sup>.

O uso da terapia anti-retroviral combinada (TARV) alterou de forma dramática a evolução da doença, com importante diminuição na mortalidade e melhoria na qualidade de vida dos indivíduos infectados <sup>8</sup>. Apesar dos seus potenciais efeitos adversos <sup>9</sup>, a TARV, no Brasil, reduziu em aproximadamente 80% as internações hospitalares e 50% a mortalidade das pessoas com SIDA <sup>4</sup>, fato que proporcionou cronicidade a esta doença.

Estratégias complementares à TARV têm sido buscadas com o objetivo de melhorar ainda mais a qualidade de vida destes indivíduos e o exercício físico tem demonstrado a sua eficiência nos parâmetros antropométricos, cardiorrespiratórios, musculares e psicológicos<sup>10-12</sup>, porém, com relação ao EO, o treinamento físico em pessoas não portadoras do HIV, proporciona adaptações capazes de mitigar os efeitos deletérios provocados pelo EO<sup>13</sup>; no entanto, a sua utilização não está elucidada em indivíduos infectados pelo HIV<sup>14</sup>.

A partir da identificação desta lacuna, decidiu-se revisar aspectos clínicos e fisiológicos da infecção pelo HIV, contextualizando sobre o estresse oxidativo e os efeitos agudos e crônicos do exercício físico. E, por fim, considerando a carência de informações sobre o EO associado ao exercício físico nessa população, conduzimos um estudo original que apresenta os efeitos de uma única sessão de exercício combinado (aeróbico e resistido) de intensidade moderada sobre o EO e o sistema imunológico em portadores do HIV.

## 1.2 Radicais livres, espécies reativas de oxigênio e estresse oxidativo

Baseado no qualificado trabalho de Wulf Dröge<sup>15</sup> a presença de radicais livres (RL) em materiais biológicos foi descoberta nos meados da década de 50. Logo depois o pesquisador Denham Harman sugeriu que radicais de oxigênio podem ser formados por produtos de reações enzimáticas *in vivo* e em 1956 ele descreveu os RL como uma caixa de Pandora que pode ser responsável por todos os males ao dano celular, mutagênese, carcinogênese e também no processo degenerativo do envelhecimento biológico.

A ciência dos RL em organismos vivos entrou na segunda era após a descoberta da enzima superóxido dismutase (SOD) pelos pesquisadores McCord e Fridovich<sup>16</sup> no ano de 1969, fato que ratificou a importância dos RL na biologia. A partir de então, numerosas pesquisas foram realizadas para investigar os danos causados pelos RL no ácido desoxirribonucléico (DNA), proteínas, lipídeos e outros componentes celulares.

A terceira era do RL teve início com os primeiros relatos descrevendo efeitos biológicos positivos dessas substâncias. Em 1977 os pesquisadores Mittal e Murrad<sup>17</sup> forneceram evidências substanciais de que o radical superóxido, através do seu derivado, o radical hidroxil, estimula a ativação da guanilato ciclase e a formação do segundo mensageiro guanosina monofosfato cíclico (GMP-c). Efeitos similares do peróxido de hidrogênio já haviam sido descritos por White et al.<sup>18</sup> em 1976. Na década de 80, Ignarro e Kadowitz<sup>19</sup> e, posteriormente, Radomski et al.<sup>20</sup>, descreveram o papel independente do óxido nítrico (NO) no controle do relaxamento da musculatura lisa dos vasos e na inibição da agregação plaquetária. Mais recentemente, em 1991, Schreck e Baeuerle<sup>21</sup> relataram à ativação do fator de transcrição nuclear  $\kappa B$  (*nuclear factor  $\kappa B$*  – NF- $\kappa B$ ) pelo peróxido de hidrogênio em células de mamíferos. E agora, no início do século 21, são grandes as evidências mostrando que os organismos vivos adaptaram-se não somente a uma coexistência hostil com RL, mas, têm de fato, desenvolvido mecanismos para o uso vantajoso dos mesmos.

Os RL e seus derivados participam de importantes funções biológicas, entre as quais se destacam a regulação do tônus vascular, o aumento na transdução de sinais de vários receptores de membrana e a resposta ao estresse oxidativo que assegura a manutenção do equilíbrio redox. Por outro lado, as evidências apontam à participação dos RL na patogênese e progressão de diversas doenças. Estes fatos reforçam a

importância do equilíbrio entre os benefícios e malefícios dos RL e seus derivados na adaptação celular.

### 1.2.1 Formação dos radicais livres e espécies reativas de oxigênio e defesa antioxidante

A concentração de oxigênio corresponde a 21% da composição do ar atmosférico e é essencial para a respiração e outras reações oxidativas nos organismos aeróbios. Porém, naturalmente no metabolismo celular, durante a redução do oxigênio molecular formam-se RL de oxigênio e espécies reativas de oxigênio (ERO) <sup>22, 23</sup>. Os RL são moléculas orgânicas e inorgânicas e átomos que contêm um ou mais elétrons desemparelhados em seus orbitais. Os exemplos mais conhecidos de RL são o radical superóxido, o radical hidroxil e o óxido nítrico, sendo este último um RL centrado no nitrogênio. Esta configuração eletrônica faz dos RL moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente reativas <sup>24</sup>. Já as ERO representam o termo coletivo que inclui além dos RL, outras substâncias derivadas do oxigênio, que não contêm elétrons desemparelhados, mas que também possuem características quimicamente reativas. Entre estas espécies destacam-se o peróxido de hidrogênio e o oxigênio singlet <sup>23</sup>.

O radical superóxido é formado pela redução univalente do oxigênio molecular. Esta reação é mediada por enzimas como a NADPH oxidase e a xantina oxidase ou por reações não enzimáticas com a utilização de componentes redox reativos como a semi-ubiquinona, encontrada na cadeia de transportes de elétrons da mitocôndria <sup>15, 23</sup>. A SOD converte o superóxido em peróxido de hidrogênio. Em tecidos biológicos, o superóxido, além de ser convertido a peróxido de hidrogênio, pode ser transformado em oxigênio singlet. Na presença de metais de transição como os íons ferro e cobre, o peróxido de hidrogênio pode ser convertido ao altamente reativo radical hidroxil <sup>15, 23</sup>.

Alternativamente, o peróxido de hidrogênio pode ser convertido à água pelas enzimas catalase (CAT) ou glutathiona peroxidase (GPx). Nesta última reação, a glutathiona (GSH) é convertida a dissulfeto de glutathiona, ou glutathiona oxidada (GSSG), a qual pode ser convertida de volta a GSH por meio da glutathiona redutase, em um processo que utiliza como substrato o NADPH <sup>15, 23</sup>. Além de servir como substrato enzimático, a GSH pode combater diretamente os RL e as ERO, e por isso os níveis da



razão GSH/GSSG são apontados como um importante marcador do estado redox celular<sup>25, 26</sup>.

O estresse oxidativo é o termo geralmente usado para descrever os danos causados pelas ERO nas moléculas ou mesmo no organismo como um todo. O nível de EO é determinado pelo balanço entre a atividade pró-oxidante e a atividade antioxidante. Desta forma, EO é o desequilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes que resulta em aumento da formação de radicais livres e induz um aumento de injúrias oxidativas<sup>15, 23, 27</sup>.

O mecanismo pró-oxidante inclui tanto os RL quanto as ERO e um dos principais mecanismos de lesão celular, relacionados ao EO, é a lipoperoxidação que é a oxidação da camada lipídica da membrana celular<sup>27</sup>. Além disso, o EO pode gerar danos ao DNA, às proteínas e também tem implicações na patogênese de várias doenças em seres humanos, que incluem doença de *Alzheimer*, diabetes, hipercolesterolemia, síndrome hepato-renal entre outras<sup>15, 28</sup>. No sistema cardiovascular, o EO contribui para o início e a progressão de doenças como a hipertensão, a aterosclerose, a hipertrofia cardíaca e o infarto do miocárdio<sup>29, 30</sup>. Nos portadores do HIV, o EO está particularmente aumentado em função dos níveis elevados de peróxido, os quais foram mais fortemente associados ao regime medicamentoso que continha os inibidores da protease (IP), do que o regime que utilizava inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos (ITRNN)<sup>7, 31</sup>.

Como as substâncias pró-oxidantes são constantemente formadas em pequenas quantidades no metabolismo normal, as células possuem mecanismos para evitar o desequilíbrio oxidativo, o sistema de defesa antioxidante, e assim, impedir o dano causado pelos mecanismos agressores<sup>27</sup>. Halliwell e Gutteridge<sup>32</sup> definem que antioxidantes são substâncias capazes, em baixas concentrações, de competir com outros substratos oxidantes e assim, retardar ou inibir a oxidação desses produtos. Os autores salientam que a composição das defesas antioxidantes difere de tecido para tecido, de tipo de célula a tipo de célula e possivelmente de célula a célula do mesmo tipo, em um dado tecido, sendo dividida em dois sistemas: o enzimático e o não enzimático.

O sistema antioxidante enzimático inclui as enzimas SOD, CAT, GPx e a glutathione S-transferase (GST). Já o não enzimático, inclui compostos como a GSH, a bilirrubina, a ceruloplasmina, hormônios sexuais, a melatonina, a coenzima Q e o ácido

úrico. Além disto, outros antioxidantes são ingeridos através da dieta como ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E)  $\beta$ -caroteno e flavonóides<sup>15, 23, 32</sup>.

Para avaliar o EO podem ser utilizados vários marcadores no sangue, na urina e no tecido muscular. O mais usual tem sido a medida de produtos da lipoperoxidação, como o pentano expirado, o malondialdeído (MDA), os isoprostanos e dienos conjugados; e os da quebra de DNA, como o 8-oxo-7,8-diidro-2'-deoxiguanosina (8-oxoG). Além destes marcadores, os níveis de antioxidantes, como a GSH, a razão GSH/GSSG e a atividade das enzimas antioxidantes também têm sido bastante utilizadas.

### **1.3 A Infecção pelo HIV e o Estresse Oxidativo**

A infecção pelo HIV requer a ligação do vírus a dois receptores sobre as células do hospedeiro: o CD4, receptor de alta afinidade pelo HIV e os receptores de quimiocinas, conhecidos como co-receptores do HIV (CXCR4 ou CCR5). Nesta fase inicial, duas glicoproteínas do envelope do HIV, gp120 e gp41, são fundamentais para o processo infeccioso pela sua atuação na ligação e entrada do conteúdo viral na célula hospedeira<sup>1</sup>.

A contaminação pelo HIV afeta principalmente os linfócitos T que expressam receptores para o CD4, e a sua evolução resulta em depleção progressiva destas células imunes, o que diminui a habilidade do organismo para combater doenças que são usualmente combatíveis, e por isso denominadas de oportunistas<sup>33</sup>. A linfocitopenia de T CD4+ e o aumento da carga viral são parâmetros determinantes para a progressão da infecção pelo HIV que culmina no estágio final denominado de SIDA, que é a fase mais avançada da infecção pelo vírus<sup>1, 33, 34</sup>.

Uma propriedade do ciclo de vida retroviral é que o vírus pode ficar inscrito no genoma humano e se replicar mediante algum estímulo ou com a própria multiplicação celular, antes da ativação, sem a produção de qualquer proteína ou ácido ribonucléico mensageiro (RNAm). Entre os agentes que podem estimular a replicação viral encontram-se os mitógenos, os antígenos, as citoquinas, fatores físicos e o EO que pode ser o mecanismo comum para a ativação viral<sup>35</sup>.

Além da característica estimulatória, o EO contribui para a evolução da infecção pelo HIV e o desenvolvimento da SIDA<sup>6, 15, 33</sup>. A associação entre os dois fatores, HIV e EO, foi descrita ainda no início dos anos 90, devido à ligação de outros

vírus, como o influenza, ao estado redox alterado<sup>35,36</sup>. Nessa mesma época, surgiram os primeiros indicativos de que o peróxido de hidrogênio pode ativar o NF-κB e induzir a expressão e replicação do HIV<sup>35</sup>. O NF-κB encontra-se inativo no citosol quando ligado à molécula IκB. A ativação, que ocorre com uma variedade de estímulos oxidativos, resulta na dissociação do complexo em NF-κB e IκB com a subsequente translocação do NF-κB para o núcleo, onde o mesmo pode modular a oxirredução. A ativação deste fator de transcrição pelo EO é específica e pode ocorrer em baixas concentrações. Uma variedade de antioxidantes, incluindo a GSH, éster de GSH e N-acetilcisteína podem bloquear a ativação do NF-κB<sup>35</sup>.

Além da atuação direta na replicação do vírus, o EO, por diminuir a capacidade antioxidante, influencia na função imune, visto que células do sistema imunológico necessitam de altas concentrações de antioxidantes para manter o estado redox e preservar a integridade e função celular<sup>6,37</sup>.

A infecção pelo HIV produz EO e secundariamente dano celular de gravidade variada e a sua regressão é dependente do balanço redox entre oxidantes e antioxidantes<sup>6</sup>. Os indivíduos HIV positivos apresentam distúrbios no metabolismo da glutatona, concentrações de antioxidantes séricos e teciduais diminuídos, produtos da lipoperoxidação aumentados e as células T CD4+ são caracterizadas por uma diminuição dos níveis de GSH, aumento da GSSG que, conseqüentemente, gera a diminuição da razão GSH/GSSG, indicando EO<sup>5,33,38-40</sup>.

Ratificando essas informações, Herzenberg et al.<sup>41</sup> mostraram que os níveis de GSH são menores em portadores do HIV com T CD4+ abaixo de 200/μl do que portadores que se encontram em estágios iniciais da doença. Ademais, esta característica mostrou-se associada ao menor tempo de sobrevida nessa população. No mesmo estudo, a administração de N-acetilcisteína, substância que fornece a cisteína necessária para restaurar a GSH, apontou melhoras na sobrevida dos sujeitos que estão com níveis de GSH muito baixos.

As possíveis causas para a diminuição nos níveis de GSH são a deficiência na disponibilidade do aminoácido precursor, a cisteína, e pelo aumento da atividade de citocinas pró-inflamatórias, principalmente pelo fator de necrose tumoral α (TNF-α)<sup>37</sup>. A estimulação do TNF-α leva a uma diminuição da GSH por aumentar a produção de ERO, e por conseqüência, aumentar o consumo da GSH devido a sua atividade antioxidante<sup>37,40</sup>.

Apesar dos estudos citados acima indicarem que os portadores do HIV apresentam níveis alterados de GSH, alguns trabalhos discordam desses resultados. Lang et al.<sup>42</sup> não encontraram diferenças nos valores de GSH, GSSG e na razão GSH/GSSG em soropositivos que possuíam células T CD4+ acima de 500/ $\mu$ l e com células T CD4+ entre 200 e 500/ $\mu$ l, quando comparados com indivíduos saudáveis. Apenas os portadores que possuíam células abaixo de 200/ $\mu$ l tiveram níveis diminuídos dos antioxidantes, quando comparados com os indivíduos saudáveis.

O estudo de van de Ven et al.<sup>43</sup> também não verificou alterações nos níveis de GSH em portadores do HIV que possuíam células T CD4+ acima de 200/ $\mu$ l, quando comparados com indivíduos hígidos, porém, como observado no estudo de Lang et al.<sup>42</sup>, os valores de GSH foram menores do que os encontrados no grupo controle nos portadores com células T CD4+ abaixo de 200/ $\mu$ l. Estes resultados indicam que em estágios mais avançados da infecção o mecanismo antioxidante pode ficar mais debilitado do que em fases mais iniciais. Uma possível explicação para estes resultados discrepantes pode estar associada à fase de replicação viral e aos métodos utilizados para quantificar essa substância<sup>44</sup>.

Conforme visto anteriormente, algumas vitaminas (A, C e E) também possuem atividades antioxidantes. A vitamina C ou o ácido ascórbico é o maior antioxidante hidrossolúvel e tem demonstrado sua eficiência no combate aos radicais superóxido, hidroxil, ao peróxido de hidrogênio e oxigênio singlet<sup>45, 46</sup>. Além da atuação direta contra os RL, a vitamina C atua como regeneradora da vitamina E, após esta ser oxidada<sup>47</sup>. A vitamina E, por sua vez, é um importante antioxidante lipossolúvel que age no combate a RL e previne a lipoperoxidação da membrana celular via doação de elétrons, interrompendo a reação em cadeia originada pelos RL<sup>45, 46, 48</sup>.

Por possuírem características antioxidantes e comumente serem encontradas em níveis deficitários nos portadores do HIV, provavelmente pela mal-absorção, alteração do metabolismo, infecção intestinal e pela função alterada da barreira do intestino, elas têm recebido destacadas atenções nessa população<sup>49</sup>.

Em um estudo prospectivo realizado nos Estados Unidos, Tang et al.<sup>48</sup>, encontraram que os indivíduos com elevados níveis de vitamina E ( $\geq 23,5$   $\mu$ mol/l) no soro têm diminuição de 35% no risco de progressão da SIDA e menor mortalidade, quando comparados a indivíduos que apresentam níveis menores dessa mesma vitamina. Porém, aproximadamente 22% dos participantes apresentaram níveis baixos

de vitamina E (<11,6 µmol/l) e nestes casos não foram observadas associações entre os baixos valores e a progressão da doença.

Em um qualificado estudo, Allard et al.<sup>50</sup> randomizaram 40 indivíduos HIV positivos para receber suplemento (800 IU de acetato DL- $\alpha$ -tocoferol e 1000 mg de vitamina C ou placebo diariamente) durante 3 meses. Como resultados foram observados aumentos nos valores plasmáticos do  $\alpha$ -tocoferol e vitamina C, bem como redução na lipoperoxidação no grupo que recebeu a suplementação quando comparado com o grupo placebo.

Complementando a informação acima, Fawzi et al.<sup>51</sup> em um ensaio clínico randomizado, verificaram que a suplementação com um complexo multivitamínico contendo vitaminas B, C e E, retardou a progressão da doença, diminuiu a incidência de complicações associadas a infecção e esteve associado com valores maiores de células T CD4+, após um período médio de 71 meses em mulheres grávidas da Tanzânia que não utilizavam TARV, quando comparadas com um grupo controle e outro que utilizava somente vitamina A.

Concordando parcialmente com os resultados acima, o interessante trabalho de Jaruga et al.<sup>52</sup>, verificou que a suplementação com vitaminas A, C e E em portadores do HIV da Polônia, durante 6 meses, foi capaz de aumentar os níveis plasmáticos dessas vitaminas e, conseqüentemente, diminuir a lesão ao DNA e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid-reactive substances* - TBARS), um marcador de lipoperoxidação, além de aumentar a atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT.

Contribuindo com os dados acima, Srinivas e Dias<sup>53</sup>, mostraram que as alterações nos níveis das vitaminas E, C e A são significativamente menores em crianças indianas portadoras do HIV quando comparadas com controles hígidos.

Na era da TARV, em um estudo na população americana, Stephensen et al.<sup>54</sup>, concluíram que a infecção pelo HIV aumenta a necessidade de vitaminas C e E. Os autores encontraram concentrações diminuídas de ascorbato nos portadores do HIV, mesmo naqueles que tinham ingestão adequada destas substâncias. Por outro lado, a ingestão de vitamina E foi baixa em muitos participantes do estudo, no entanto, os níveis de  $\alpha$ -tocoferol não foram reduzidos pela infecção pelo HIV, provavelmente por mecanismos do metabolismo compensar o transporte do fígado para os tecidos.

Devido às vitaminas serem oriundas da alimentação, os hábitos e culturas alimentares influenciam diretamente na ingestão destes nutrientes, e conseqüentemente,

os níveis plasmáticos destas substâncias dependem diretamente desse fator. Dessa forma, esses fatores podem explicar os dados divergentes encontrados em alguns estudos.

Baseado nas informações acima, pode-se afirmar que o EO tem uma atuação patogênica na infecção pelo HIV. Com o estado redox alterado e os níveis de antioxidantes significativamente reduzidos no plasma e nos leucócitos <sup>6</sup>, os indivíduos HIV positivos estão mais suscetíveis aos danos associados ao EO. Estas características favorecem a progressão da infecção com aumento da replicação viral, carcinogênese, disfunção imune e aumento na apoptose das células T <sup>6, 38</sup>. Sabendo da importância do mecanismo antioxidante nessa população, a utilização de estratégias alternativas para melhorar esse sistema torna-se interessante e deve ser constantemente analisada.

#### **1.4 O Estresse Oxidativo e a Terapia Anti-Retroviral Combinada**

O desenvolvimento da TARV, que é a associação de inibidores da transcriptase reversa análogos aos nucleosídeos (ITRN) a um inibidor da transcriptase reversa não análogo ao nucleosídeo ou um inibidor de protease, nos meados da década de 90 levou a significativa supressão viral e resultou em dramática redução da morbidade e da mortalidade associada ao HIV. Conseqüentemente o uso correto da terapia aumentou a sobrevivência e a qualidade de vida das pessoas vivendo com HIV/SIDA <sup>55, 56</sup>.

Apesar da significativa melhora nos parâmetros clínicos, virais e imunológicos dos indivíduos HIV positivos a TARV estabeleceu uma nova preocupação terapêutica pela sua associação a alterações metabólicas como a resistência à insulina, a hipercolesterolemia, a hipertrigliceridemia, a lipoatrofia periférica e o acúmulo de gordura visceral e central, todas vinculadas ao aumento de risco de doenças cardiovasculares <sup>57-60</sup>.

Além disso, a sua relação com o EO ainda não está completamente esclarecida, em alguns casos indicando melhora, enquanto em outros, apontando prejuízos aos componentes antioxidantes.

Os trabalhos do grupo de Aukrust et al. <sup>38, 61</sup> indicam que as células T CD4+ dos indivíduos HIV positivos são caracterizadas por apresentarem baixa capacidade antioxidante. Antes do início do tratamento com a TARV, elas apresentam significativa diminuição nos níveis plasmáticos de GSH, vitamina C e vitamina E, e níveis aumentados de GSSG e 8-oxoG, os quais são atribuídos a própria infecção viral. A TARV, neste caso composta por medicamentos das classes de IP e ITRNN, foi capaz de

umentar os antioxidantes depletados, porém, não chegando a valores encontrados em indivíduos não infectados. Ademais, durante o tratamento foram encontradas diminuições nos níveis do MDA, mas como observado para os antioxidantes, não chegaram aos níveis dos indivíduos controles. Ainda foi observado que a máxima alteração na carga viral foi negativamente correlacionada com a máxima alteração na vitamina C e a razão de glutathione reduzida pela glutathione total nas células T CD4+.

Outro trabalho que relatou efeitos benéficos da TARV com relação ao EO foi o de Tang et al. <sup>62</sup>. Neste estudo que incluiu portadores do HIV usuários de drogas injetáveis os autores verificaram, após análise multivariada, que os tratados com IP mostraram valores maiores para as concentrações do antioxidante  $\alpha$ -tocoferol, quando comparados com os que utilizavam medicação anti-retroviral sem os IP, com grupo sem terapia, monoterapia e no grupo controle composto por usuários de drogas injetáveis não portadores do vírus. Os pesquisadores atribuem estes resultados ao efeito positivo dos IP no controle da replicação viral, proporcionando menor EO induzido pelo vírus, e em função disso, obteve-se menor utilização de antioxidantes.

Mesmo com os poucos dados e estudos com desenhos metodológicos limitados encontrados na literatura, observa-se uma discrepância entre os resultados observados no que se refere o tema TARV e EO. Um número maior de trabalhos aponta para um desequilíbrio oxidativo presente na terapia. Além disso, estudos específicos apontam indução de EO por alguns medicamentos em populações não portadoras do HIV.

Utilizando os níveis de peróxido plasmático como um marcador de EO, Masiá et al. <sup>7</sup> em estudo prospectivo, verificaram que os usuários da terapia anti-retroviral baseada em ITRNN apresentavam níveis significativamente menor deste marcador quando comparados com os usuários da terapia baseada em IP. Além deste aspecto, os autores observaram que alguns indivíduos que interromperam o tratamento apresentavam níveis mais elevados de peróxido, indicando que o descontrole virológico pode, também, contribuir para o estado pró-oxidativo.

Concordando com os resultados do estudo acima, Hurwitz et al. <sup>63</sup>, incluiu, em um criterioso trabalho, portadores do HIV usuários de medicação, separados pelo uso ou não de IP, e controles hígidos pareados por sexo, idade, índice de massa corporal (IMC) e afiliação étnica. Como resultados, foram observados que os sujeitos soropositivos possuem níveis maiores de inflamação, verificados pelos valores de proteína C reativa, e maiores evidências de síndrome metabólica do que os soronegativos. Quando analisada a classe de medicamento, os resultados apontam para

níveis maiores de EO (quantificado pelo 8-isoprostano), triglicerídeos, lipidemia e risco de evento coronariano agudo nos próximos 10 anos nos usuários de IP do que nos não-usuários de IP e não portadores do HIV.

Com um desenho experimental semelhante, Hulgan et al.<sup>28</sup> avaliaram a formação de F<sub>2</sub> isoprostanos em um grupo de soropositivos. Foram observados que os maiores valores desse marcador de lipoperoxidação, após análise multivariada, estavam associados ao uso de um medicamento ITRNN, e aos baixos valores plasmáticos de RNA viral do HIV-1. Os autores destacaram que é concebível que o aumento do EO seja um componente do processo da reconstituição imune em alguns sujeitos. A associação entre aumento de F<sub>2</sub> isoprostanos e baixa viremia no plasma suporta de forma mais consistente esta hipótese.

Baseado nestes subsídios pode-se inferir que tanto a atuação do vírus per se quanto os mecanismos de ação dos medicamentos e outros fatores ambientais como alimentação influenciam no estado redox. Em função disso, alguns pesquisadores utilizaram modelos experimentais e *in vitro* para avaliar com maior precisão o efeito das drogas anti-retrovirais no EO.

Analisando o efeito *in vitro* de um IP, Vincent et al.<sup>64</sup> verificaram a associação deste medicamento com a necrose de adipócitos. Os autores atribuíram este resultado a produção de ERO induzida pelo medicamento naquelas células. Confirmando estes resultados, foram observados aumentos próximos de 8 vezes na expressão do gene da heme-oxigenase 1 (HO-1), uma enzima considerada um marcador real de EO, quando as células foram tratadas com 30 µM de IP. A necrose celular e o aumento da HO-1 foram completamente revertidos com o tratamento combinado com 100 µM de ascorbato, ratificando o efeito deletério, via EO, do medicamento.

Trabalhando com modelo experimental, Papparella et al.<sup>65</sup>, observaram que o tratamento com um ITRN durante 8 meses aumentou a pressão arterial sistólica dos ratos, promoveu aumento do EO e da ativação da NADPH oxidase, além de diminuir a capacidade antioxidante plasmática e tecidual dos animais. Fatos estes que possivelmente permitiram a danificação das mitocôndrias cardíacas dos ratos. Todos estes efeitos não ocorreram nos ratos que foram tratados simultaneamente com vitamina C. Estes resultados indicam que, ao menos parcialmente, os danos causados pela administração do ITRN são devidos à produção de ERO, as quais foram evitadas pela atividade antioxidante da vitamina C.



Corroborando com os resultados acima, García de la Asunción et al. <sup>66</sup>, utilizando modelo experimental semelhante e a mesma droga anti-retroviral, encontraram aumentos nos níveis de 8-oxoG, na GSSG, na razão GSSG/GSH e na formação de MDA quando avaliadas as mitocôndrias cardíacas dos ratos. Assim como no estudo anterior, todos os resultados foram normalizados com o uso de doses supra-nutricionais das vitaminas antioxidantes C e E na dieta dos animais.

As evidências acima suportam a premissa que o aumento do EO contribui para a patogenia da infecção pelo HIV e os achados *in vitro* e *in vivo* sugerem que a intervenção terapêutica, que aponta para a normalização dos distúrbios oxidativos, pode ser relevante para os indivíduos que fazem uso da TARV. E conforme verificado, se por um lado o estado pró-oxidante prejudica o paciente HIV, por outro lado, o estado antioxidante inibe a replicação viral, potencializa o período de latência e a melhora do quadro clínico do indivíduo soropositivo.

### **1.5 Treinamento Físico em portadores do HIV**

Assim como a evolução da epidemia do HIV pode ser historicamente dividida nos momentos pré e pós TARV, a utilização do treinamento físico nessa população acompanha essa trajetória. Os primeiros estudos, devido às características de reduzida capacidade imune e significativa perda de massa muscular, trataram principalmente de avaliar a segurança, eficácia e adaptação fisiológica ao exercício físico em várias formas e intensidades. No período pós-TARV, o enfoque principal passou a ser o combate aos efeitos colaterais da TARV, principalmente os associados à lipodistrofia <sup>10</sup>.

Como é típico de doenças crônicas, no HIV/SIDA também existe redução na atividade física, descondicionamento e perda de capacidade aeróbia e força muscular <sup>67</sup>. Entretanto, as evidências da literatura indicam que os portadores desta síndrome apresentam melhoras significativas tanto no condicionamento aeróbio quanto muscular em resposta ao treinamento físico <sup>10, 68, 69</sup>. Nesse sentido, é importante lembrar que a chave para o treinamento físico é a especificidade: o treinamento aeróbio enfatiza o condicionamento aeróbio, enquanto o treinamento resistido direciona-se à força e a massa muscular <sup>67</sup>. Em função disso, as estratégias de treinamento podem ser isoladas utilizando somente treinamento aeróbio, apenas resistido, ou combinando os dois tipos.

Fundamentado nas informações de Calabrese e LaPerriere<sup>70</sup>, o primeiro estudo descrito na literatura que utilizou o treinamento aeróbio em portadores do HIV foi o do grupo de Arthur LaPerriere em 1988. Neste estudo os autores verificaram que houve aumento nas células T CD4+ em resposta ao treinamento físico.

Devido às alterações fisiológicas proporcionadas pelo exercício físico, questionou-se a possibilidade de aumento da replicação viral em resposta ao mesmo. Esta possibilidade foi desmistificada por Roubenoff et al.<sup>71</sup>, quando os mesmos avaliaram uma sessão de exercício de intensidade moderada e verificaram que não houve aumento do mRNA viral, em nenhum momento avaliado (2, 6, 24 e 168 horas) após a sessão de exercício físico.

Embora o resultado de melhora no perfil imune fosse tentador, a maioria das evidências não aponta para isso. Em um trabalho que randomizou os participantes para se exercitar em intensidade moderada (55-60% frequência cardíaca (FC) máxima) ou alta (75-85% FC máxima), Terry et al.<sup>72</sup> verificaram que após 36 sessões de treinamento, ambos os grupos tiveram aumento na capacidade funcional, avaliada pelo tempo de permanência na esteira durante o teste de esforço. No entanto, os participantes não apresentaram mudanças significativas na função imune.

Também utilizando o treinamento aeróbio como uma estratégia para melhorar a capacidade aeróbia, Smith et al.<sup>73</sup> randomizaram 60 indivíduos para se exercitarem ou participarem do grupo controle. Ao final do programa de treinamento, os pesquisadores encontraram aumento significativo no tempo de teste, o que foi considerado uma melhora na fadiga, redução no peso e IMC, percentual de gordura e circunferência da cintura. Porém, o consumo máximo de oxigênio ( $VO_{2max}$ ) e as variáveis imunológicas, T CD4+ e carga viral, não apresentaram alterações estatisticamente significativas.

Mesmo com os trabalhos indicando que a reduzida capacidade aeróbia observada nos portadores do HIV pode ser revertida com o treinamento adequado, Cade et al.<sup>74</sup> e Duong et al.<sup>75</sup> afirmam que a infecção viral per se e o uso de medicamentos anti-retrovirais, principalmente os ITRN, podem limitar a extração e utilização do oxigênio, levando a uma redução do  $VO_{2max}$ . A explicação para esta redução seria a toxicidade e a disfunção mitocondrial ocasionada pela infecção viral e inflamação bem como a utilização daquela classe de medicamentos.

Em indivíduos não portadores do HIV, o treinamento físico está associado a alterações favoráveis nos lipídeos sanguíneos, em particular aumentos no HDL,

redução de triglicerídeos e da lipoproteína de baixa densidade (low-density lipoprotein – LDL). Para avaliar essa possibilidade, o grupo de Thöni et al.<sup>76</sup> investigou o efeito do treinamento aeróbio no perfil lipídico e na quantidade de gordura localizada em portadores do HIV que apresentavam lipodistrofia. O treinamento foi capaz de proporcionar aumentos no  $VO_{2max}$ , na lipoproteína de alta densidade (high-density lipoprotein – HDL) e reduzir os triglicerídeos, o lactato de repouso, a gordura abdominal total e visceral. Porém, não alterou os níveis do LDL, glicose, insulina, percentual de gordura total e massa livre de gordura, quando comparados os valores pré e pós-treinamento.

Corroborando com os resultados acima, o recente trabalho de Mutimura et al.<sup>77</sup> incluiu aproximadamente 200 participantes (portadores do HIV com redistribuição de gordura corporal foram randomizados entre grupo experimental e controles, indivíduos soropositivos sem redistribuição de gordura corporal e indivíduos não portadores do HIV também participaram como controles sem exercício físico). Após o período de treinamento o grupo experimental apresentou melhora no  $VO_{2max}$  predito, diminuição nas dobras cutâneas, percentual de gordura, colesterol total, triglicerídeos, níveis de glicose plasmática e circunferência da cintura quando comparado com os grupos controles. Não houve diferença significativa nas variáveis imunológicas em resposta ao treinamento físico.

Mesmo com os resultados animadores relacionados ao perfil lipídico dos trabalhos acima, eles não são consenso na literatura. Em um estudo randomizado, Terry et al,<sup>12</sup> verificaram o efeito do treinamento aeróbio e recomendações na dieta ou exercícios de alongamento no perfil lipídico de pacientes HIV positivos em tratamento com IP. Como resultados do treinamento foram encontrados aumentos no pico do consumo de oxigênio ( $VO_{2pico}$ ). Contudo, não foram observadas mudanças significativas no perfil lipídico e na função imune quando comparados com o grupo controle. Os autores sugerem que o tratamento com os IP é um potente estímulo para a dislipidemia que não pode ser revertido com o treinamento aeróbio e recomendações na dieta dos pacientes.

Em função das amostras que compõe os trabalhos envolvendo treinamento físico e portadores do HIV serem relativamente pequenas, o grupo da pesquisadora Kelly O'Brien realizou uma metanálise<sup>78</sup> para verificar a eficácia dessa estratégia nos desfechos  $VO_{2max}$ , células T CD4+ e carga viral. A metanálise envolveu 10 estudos que incluíram protocolos de exercícios aeróbios. Os autores concluíram que, com a

ressalva das amostras envolvidas serem pequenas, a realização de exercícios aeróbios por, no mínimo, 20 minutos em 3 sessões semanais durante, pelo menos, 4 semanas pode proporcionar aumentos no  $VO_{2max}$  sem influenciar nos parâmetros imunológicos e virais. Os autores destacam ainda que os protocolos que utilizaram intensidades mais altas tiveram resultados mais significativos no desfecho  $VO_{2max}$ .

Outra característica presente na infecção pelo HIV, e acentuada pela inatividade física freqüentemente presente nessa população é a perda de massa e força muscular. Esta particularidade gera inabilidade física que conseqüentemente influencia na qualidade de vida.

O treinamento de força ou treinamento resistido tem mostrado a sua eficácia com relação ao aumento de massa e força muscular, nas mais variadas situações, incluindo o envelhecimento natural e populações fragilizadas <sup>68</sup>. Com o intuito de avaliar este desfecho, alguns trabalhos foram realizados em indivíduos HIV positivos.

Um dos primeiros trabalhos utilizando especificamente o treinamento resistido em portadores do HIV foi o de Roubenoff et al. <sup>79</sup> em 1999. Neste trabalho os autores incluíram 24 indivíduos que participaram do treinamento 3 vezes por semana durante 8 semanas. Após o período de treinamento foram encontrados aumentos estatisticamente significativos no teste de 1 repetição máxima (1-RM) em todos os exercícios e na massa livre de gordura, além de redução na gordura corporal. Não foram verificadas alterações significativas na densidade mineral óssea nem nas variáveis imunes T CD4+ e carga viral.

Confirmando os achados acima, Yarasheski et al. <sup>80</sup> utilizaram um protocolo de treinamento resistido progressivo e encontraram, após 64 sessões de exercício, aumentos no peso corporal e na força e massa muscular dos participantes. O principal achado deste trabalho, com a ressalva de não ser controlado, foi à redução nos níveis de triglicerídeos após o treinamento. Fato que ocorreu principalmente nos participantes que apresentavam níveis maiores dessa substância no momento basal e sem uma redução simultânea da gordura corporal.

A combinação do treinamento resistido e uso de substâncias anabólicas como a testosterona e nandrolona também já foi verificada nessa população.

Comparando o uso de decanoato de nandrolona acompanhado ou não de treinamento resistido, Sattler et al. <sup>81</sup> verificaram que ambos os grupos obtiveram aumentos no peso corporal e na massa muscular. Porém, conforme esperado, o grupo

que participou do treinamento teve aumentos mais significativos na massa e força muscular.

Em trabalho semelhante, Grinspoon et al.<sup>82</sup> randomizaram os participantes em 4 grupos, suplementação com testosterona (200 mg por semana) com e sem exercício, placebo com e sem exercício. Após o seguimento de 12 semanas os autores encontraram aumentos na força e área muscular nos grupos que realizaram o treinamento e que receberam a suplementação de testosterona. Contudo, apenas o grupo que realizou o treinamento sem suplementação apresentou aumentos nos valores de HDL, enquanto que o grupo que somente utilizou testosterona diminuiu estes valores.

Lindegaard et al.<sup>83</sup> foram os primeiros pesquisadores a comparar os dois tradicionais métodos de treinamento, aeróbio e resistido, na população em estudo. Em um complexo trabalho que randomizou os participantes para treinamento aeróbio ou treinamento resistido, os autores avaliaram o efeito dos treinamentos na sensibilidade a insulina, marcadores inflamatórios, distribuição da gordura corporal e perfil lipídico em portadores com lipodistrofia. Concordando com resultados de estudos anteriores, o grupo que realizou treinamento aeróbio aumentou o  $VO_{2max}$  e o grupo que participou do treinamento resistido aumentou a força e a massa muscular. Ambos os modos de treinamento melhoraram a sensibilidade à insulina. Com relação à composição corporal, somente o grupo do treinamento resistido teve redução no peso corporal e percentual de gordura. Curiosamente, os treinamentos tiveram respostas diferentes com relação ao perfil lipídico. O grupo que fez treinamento aeróbio apresentou reduções nos níveis do colesterol total, LDL, ácidos graxos livres (AGL) e aumento no HDL. Enquanto que o treinamento resistido promoveu reduções nos triglicédeos, AGL e aumentou o HDL.

Este foi o primeiro trabalho que avaliou o efeito do treinamento físico em marcadores inflamatórios nessa população. O treinamento aeróbio reduziu os níveis de proteína C reativa, TNF- $\alpha$ , interleucina (IL) 6 e IL-18 enquanto que o treinamento resistido reduziu apenas os níveis de IL-18.

Devido às características e necessidades dessa população as recomendações encontradas na literatura indicam a utilização das duas estratégias de treinamento, aeróbio e resistido, combinadas<sup>10,68</sup>.

Avaliando esta estratégia de treinamento e seu efeito sobre a composição corporal, Roubenoff et al.<sup>84</sup> observaram que 16 semanas de treinamento combinado

foi capaz de reduzir a gordura corporal total, principalmente a gordura visceral, sem apresentar alterações significativas no peso e massa muscular.

Rojas et al.<sup>85</sup> conduziram um estudo com duração de 16 semanas tendo como desfechos a qualidade de vida, bem-estar psicológico, estado imunológico, força e condicionamento aeróbio de 33 sujeitos. O grupo treinado apresentou aumento significativo no  $VO_{2máx}$  relativo, na força muscular e na qualidade de vida, sem alterar significativamente as células T CD4+ e a carga viral.

Também utilizando o treinamento combinado Driscoll et al.<sup>86</sup> avaliaram esta estratégia associada à metformina, através de um estudo randomizado, em 25 indivíduos em uso de TARV. O protocolo teve a duração de 12 semanas de treinamento e os autores concluíram que o grupo que utilizou o treinamento combinado associado à metformina melhorou significativamente a condição aeróbia e a força em relação ao grupo que fez uso apenas de metformina. Os valores das células T CD4+ e carga viral não apresentaram diferenças significativas inter ou intra-grupos.

Fillipas et al.<sup>87</sup> em um ensaio clínico randomizado controlado – treinamento combinado ou caminhada – com 35 homens portadores do HIV, avaliaram a auto-eficácia, condição cardiovascular, qualidade de vida e perfil imune (carga viral e T CD4+). O estudo transcorreu durante 6 meses e não houve diferenças significativas em nenhum grupo tanto nas células T CD4+ como na carga viral, porém, houve melhora na condição aeróbia, evidenciada pela redução na FC após o teste de banco, e na qualidade de vida.

Utilizando desenho experimental semelhante ao estudo anterior, Dolan et al.<sup>88</sup> avaliaram 40 mulheres, das quais 85% do grupo experimental e 80% do grupo controle estavam em uso da TARV, nos desfechos  $VO_{2máx}$ , força, composição corporal, perfil lipídico, glicose, pressão arterial, T CD4+ e carga viral. Posteriormente as 16 semanas de treinamento, as participantes tiveram aumentos significativos no  $VO_{2máx}$  e na força muscular sem apresentarem alterações significativas nas variáveis imunes.

Engelson et al.<sup>89</sup> verificaram o efeito da associação de dieta e treinamento combinado na composição corporal, condicionamento aeróbio, força, aspectos metabólicos e qualidade de vida de 18 mulheres obesas em uso de TARV. As mulheres foram acompanhadas durante 19 meses e houve melhora significativa no condicionamento aeróbio e na força muscular. A composição corporal também apresentou melhoras, tendo reduções no peso e no percentual de gordura. Os grupos não tiveram diferenças significativas na quantidade de células T CD4+ e na carga viral.

Seguindo com a utilização de treinamento combinado, Robinson et al.<sup>90</sup> valeram-se dessa estratégia de treinamento durante 16 semanas e verificaram que os 5 participantes obtiveram aumentos significativos na força, porém, não acontecendo o mesmo com o  $VO_{2m\acute{a}x}$ .

A recente metanálise de O'Brien et al.<sup>68</sup> confirma os resultados dos estudos acima. Os autores destacam que o treinamento resistido ou a combinação deste com o treinamento aeróbio podem levar ao aumento do peso corporal, da massa e força muscular. Ressaltam também que o esse modo de treinamento é seguro e benéfico nos indivíduos que são clinicamente estáveis e que os efeitos obtidos somente são observados nos participantes que tem regularidade e continuidade nos exercícios.

### **1.6 Exercício Físico e Estresse Oxidativo**

Ao longo dos últimos 30 anos as pesquisas têm revelado uma complexa ligação entre o exercício físico e as ERO. Os experimentos iniciais focaram o efeito do exercício físico na formação dessas espécies e na indução de EO. No entanto, as pesquisas mais recentes indicam que as ERO induzidas pelo exercício também participam da modulação de uma gama de funções celulares entre as quais se inclui a expressão de genes através da transcrição pela via redox-sensitiva<sup>13, 91</sup>. No decorrer desse tópico dissertaremos sobre a evolução do conhecimento e os mais recentes achados nesta área, ressaltando os principais locais de origem das ERO durante o exercício, estresse oxidativo, dano tecidual e os possíveis efeitos destas substâncias na modulação da resposta antioxidante induzida pelo exercício físico.

O exercício físico causa uma demanda energética que, para ser suprida, induz a uma complexa resposta nos níveis cardiocirculatório, metabólico, hormonal e imunológico. Estas alterações promovem a formação de ERO principalmente através da respiração mitocondrial, da NADPH oxidase, pela xantina oxidase durante o processo de isquemia-reperfusão, pela oxidação das catecolaminas e liberação de proteínas que possuem ferro em sua composição<sup>13, 27, 92</sup>.

Inicialmente, a principal origem de ERO durante o exercício físico foi considerada a respiração mitocondrial. A necessidade aumentada de oxigênio, que chega a 15 vezes o valor de repouso e o incremento do fluxo de oxigênio para a musculatura ativa em até 100 vezes, pode promover aumento na produção de ERO. O inadequado acoplamento durante a transferência de elétrons, em particular nos complexos I, II e III, tem sido apontado como a principal causa de fuga de elétrons do

oxigênio que resulta na formação do superóxido. No entanto, mais recentemente, tem-se sugerido que a queda da pressão parcial do oxigênio, mais do que o fluxo aumentado do mesmo, é responsável pelo aumento da produção do superóxido durante o exercício <sup>13, 92</sup>.

A formação do radical superóxido durante o exercício também ocorre através das isoformas da NADPH oxidase. Esta via é mais freqüente nas células fagocíticas, porém também está presente nas células musculares e cardíacas. Além disso, o dano muscular ocasionado pelo exercício pode causar inflamação e liberar RL através da NADPH oxidase dos neutrófilos <sup>13, 27, 92</sup>.

Outro mecanismo que promove a formação de RL é o processo de isquemia-reperfusão. Quando realizando em maior intensidade, o exercício físico proporciona redistribuição do fluxo sanguíneo para a musculatura ativa, gerando hipóxia transitente em alguns órgãos como os rins e região esplênica. A re-oxigenação dos tecidos ocorre após encerramento do exercício ou com a redução da intensidade e pode gerar RL pela conversão da xantina deidrogenase a xantina oxidase. Ambas as enzimas catalisam a degradação da hipoxantina para xantina, e subseqüentemente para urato. No entanto, somente a xantina oxidase produz superóxido ao final dessa reação. A produção de RL por essa via leva ao EO horas depois do exercício e não é restrita a musculatura esquelética <sup>13, 27, 92</sup>.

Por fim, a formação de RL pelo exercício físico também pode ocorrer através da liberação e auto-oxidação das catecolaminas durante o exercício <sup>27, 92</sup>, bem como pela liberação aumentada de proteínas que contém ferro em sua composição, como por exemplo a hemoglobina e a mioglobina, as quais, via reação de Fenton, promovem a conversão do peróxido de hidrogênio ao radical hidroxil <sup>13, 92</sup>.

No entanto, mesmo com as evidências de formação de ERO durante o exercício físico, nem sempre há aumento do EO induzido pelo mesmo. Apesar de ainda não estar completamente compreendido, acredita-se que a intensidade, bem como o tempo de duração do exercício e estado nutricional são fundamentais para o desfecho <sup>13, 27</sup>.

Com a intenção de esclarecer essas dúvidas, uma gama de trabalhos é encontrada na literatura utilizando os mais variados protocolos de exercício e de medidas de EO tanto para a resposta aguda ao exercício quanto à crônica.

Avaliando o efeito da intensidade do exercício na lipoperoxidação, Leaf et al. <sup>93</sup>, quantificaram os níveis de etano e pentano expirado durante um teste máximo



realizado em esteira rolante em 4 momentos (basal, limiar anaeróbio,  $VO_{2\text{máx}}$  e aos 5 minutos de recuperação), bem como os níveis de TBARS pré e pós-exercício. Os autores encontraram aumentos do etano expirado a partir da medida do limiar anaeróbio, o qual permaneceu elevado até a recuperação, enquanto que o pentano mostrou-se elevado somente no  $VO_{2\text{máx}}$ , retornando ao nível basal após os 5 minutos de recuperação.

Também considerando a resposta aguda, porém agora em intensidade sub-máxima de exercício resistido, Ramel et al.<sup>94</sup> investigaram o efeito de 10 exercícios resistidos na concentração de noradrenalina, quantidade de neutrófilos, antioxidantes solúveis e produtos da lipoperoxidação (malondialdeído e dienos conjugados). Foram observados aumentos em todas as variáveis após os exercícios quando comparado com o momento basal. Os pesquisadores destacaram a correlação positiva entre o aumento da concentração de noradrenalina com os antioxidantes solúveis, assim como a correlação da contagem dos neutrófilos com os níveis de dienos conjugados.

Comparando o efeito de três intensidades de exercício físico (baixa, moderada e alta) entre triatletas e indivíduos não treinados, Schneider et al.<sup>95</sup> encontraram um aumento da capacidade antioxidante total nos dois grupos após a sessão de exercícios e os triatletas apresentavam uma atividade aumentada da GPx em relação ao grupo não treinado. Os autores sugerem que o aumento da capacidade antioxidante total, aliado a maior concentração do ácido úrico plasmático, de vitaminas e outros antioxidantes, tenham evitado o dano oxidativo induzido pelo exercício físico.

Observando o efeito de diferentes tipos de exercícios nos marcadores de EO – GSH e TBARS – Ilhan et al.<sup>96</sup> incluíram 60 participantes divididos em três grupos – exercício aeróbio, exercício anaeróbio e exercício combinado – e avaliaram os marcadores citados acima em 5 tempos: basal, após o exercício, 4, 6, 24 e 48 horas depois dos exercícios. Posteriormente as análises foi observado que somente o grupo que realizou exercício combinado teve aumento nos níveis de TBARS logo em seguida dos exercícios. No entanto, os níveis basais desse marcador dos outros dois grupos encontravam-se significativamente maiores do que o grupo que realizou exercício combinado.

Em trabalho com desenho experimental semelhante ao anterior, Bloomer et al.<sup>97</sup> avaliaram a resposta do EO aos exercícios aeróbio e anaeróbio. Foram utilizados como marcadores de EO o malondialdeído, carbonilas, 8-OxoG e GSH, GSSG, glutathiona total (GSht) e GSH/GSSG em 5 momentos (basal, após o exercício, 1, 6 e 24

horas depois do exercício). Destes marcadores, as carbonilas estiveram aumentadas no tempo 6 e 24 horas após o exercício anaeróbio, quando comparadas com os demais tempos e com o aeróbio e a GSSG esteve aumentada logo depois do exercício aeróbio, quando comparada com o momento basal no mesmo grupo.

Utilizando a técnica de ressonância do spin eletrônico, Groussard et al.<sup>98</sup> confirmaram o aumento da formação de RL durante o teste de Wingate. Porém, houve uma redução não esperada nos níveis de TBARS após o teste. No mesmo trabalho, os pesquisadores verificaram a manutenção da atividade da GPx e na concentração de GSH e redução na atividade da SOD.

Os dados acima mostram que o exercício físico induz formação de ERO, ocorrendo, ou não, aumento do EO. A provável explicação para as divergências entre os resultados remete-se aos diferentes protocolos e intensidades de treinamento utilizados, assim como as técnicas empregadas para quantificar as variáveis relacionadas ao EO.

Apesar da aparente idéia de efeito deletério das ERO induzidas por exercício, as evidências atuais indicam que estas mesmas substâncias tem um papel fundamental na adaptação fisiológica do treinamento<sup>13, 91, 99-102</sup>. Em resposta ao ataque das ERO, as células aprimoram os sistemas de defesa antioxidantes tais como a superóxido dismutase, a glutathione peroxidase e o ciclo redox da glutathione, tornando a célula melhor preparada para combater a produção normal de RL<sup>91, 99-102</sup>.

Acredita-se que tal adaptação deve-se a contínua presença de baixas concentrações de ERO. A base para este fenômeno pode ser explicada pelo conceito da hormese, no qual baixas quantidades de uma substância pode ser estimulatória, enquanto que altas concentrações podem ser inibitórias<sup>91, 99-102</sup>.

Em trabalho publicado no ano de 2005, Radak et al.<sup>102</sup>, incluíram as ERO induzidas pelo exercício a essa teoria. Os autores afirmam que a reação típica dessas substâncias pode ser descrita pela curva em forma de sino ou em U invertido, ou seja, baixas concentrações têm efeito estimulante (sinalização, estimulação de receptores e enzimas), enquanto que quantidades massivas inibem a atividade de enzimas e causam apoptose e necrose celular. Neste sentido, uma das extremidades da curva seria formada pela inatividade física e a outra pelo sobre-treinamento, enquanto que o ponto máximo seria obtido com exercício regular em intensidade moderada<sup>100</sup>.

Pelo fato da resposta adaptativa ser resultado do acúmulo de efeitos de repetidas séries de exercícios, o sinal inicial que leva a modulação a longo prazo pode ocorrer após cada sessão de exercícios<sup>103</sup>.

A associação entre a estimulação dada pelo exercício e a modulação da resposta antioxidante está na presença de sítios de ligação do NF-κB na região promotora de genes de enzimas como a superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD), a óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) e a  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase (GCS). Dessa forma, as ERO induzidas pelo exercício promoveriam a ativação da expressão dos genes destas enzimas. Confirmado esses resultados, Hollander et. al. <sup>103</sup>, relataram em seu trabalho que uma única sessão de exercício em esteira ativou a expressão da MnSOD em músculo esquelético de ratos, acompanhadas de um aumento da ligação do NF-κB no núcleo da célula muscular.

Para verificar se o aumento da ativação do NF-κB durante o exercício é proporcionado pelas ERO, Gómez-Cabrera et. al. <sup>104</sup>, utilizaram um bloqueador da xantina oxidase, o allopurinol, em um grupo de participantes de uma prova de maratona. Os pesquisadores constataram que o grupo que utilizou o allopurinol apresentou menor ativação do sítio p50 do NF-κB após a prova quando comparado ao grupo que recebeu placebo, confirmando essa via de ativação do NF-κB pelas ERO.

Utilizando modelo experimental, Brooks et al. <sup>105</sup> avaliaram o efeito de 8 semanas de treinamento aeróbio na resposta a um teste de contração isométrica. Os autores verificaram que o grupo realizou o treinamento apresentava, em repouso, maior ativação do NF-κB e a atividade da SOD estava aproximadamente 60% maior do que o grupo controle. Após o teste de contração isométrica, o grupo controle apresentou aumentos significativos na produção de superóxido e NO. Além disso, foram verificados incrementos na ativação do NF-κB e no ativador da proteína 1, bem como reduções significativas nos níveis de GSH e tióis plasmáticos. Dados que não foram observados no grupo que realizou treinamento, o que de certa forma, demonstra aumento da capacidade antioxidante induzida pelo treinamento.

Esses resultados indicam que as ERO induzidas pelo exercício são fundamentais para a adaptação do sistema de defesa antioxidante. A ativação do NF-κB e outros fatores de transcrição nuclear via ERO, seriam responsáveis, mesmo que parcialmente, pela melhora da atividade antioxidante observado com treinamento. E estas adaptações justificariam, ao menos em partes, a efetividade do exercício físico regular na prevenção de várias doenças crônicas como o diabetes, câncer, hipertensão arterial e obesidade que possuem efeito do EO na sua patogênese <sup>91</sup>.

Conforme foi observado, o estresse oxidativo está presente na infecção pelo HIV. A alteração no estado redox está associada à progressão da doença, diminuição da

função imune por reduzir a capacidade antioxidante e ao risco aumentado de doença cardiovascular presente na população com SIDA. Em indivíduos não portadores do HIV, o treinamento físico proporciona adaptações positivas no sistema de defesa antioxidante. No entanto, apesar de ser uma estratégia já utilizada para melhora dos parâmetros antropométricos, cardiorrespiratórios, musculares e psicológicos em portadores do HIV, a influência do exercício físico no estresse oxidativo ainda não foi investigada nesta população, tornando-se uma alternativa interessante de ser pesquisada.

## Referências

1. Parham P. *O sistema imune*. Porto Alegre, RS: Artmed; 2000.
2. UNAIDS. *AIDS epidemic update*; 2007.
3. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Microbiologia médica*. 21 ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan; 2000.
4. Saúde B-Md. Boletim epidemiológico - AIDS e DST 2007. [www.aids.gov.br](http://www.aids.gov.br). Accessed 15/05/2007.
5. Fuchs J, Emerit I, Levy A, Cernajvski L, Schofer H, Milbradt R. Clastogenic factors in plasma of HIV-1 infected patients. *Free Radic Biol Med*. Dec 1995;19(6):843-848.
6. Stehbens WE. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. *Exp Mol Pathol*. Oct 2004;77(2):121-132.
7. Masia M, Padilla S, Bernal E, et al. Influence of antiretroviral therapy on oxidative stress and cardiovascular risk: a prospective cross-sectional study in HIV-infected patients. *Clin Ther*. Jul 2007;29(7):1448-1455.
8. Wang X, Wu Z. Factors associated with adherence to antiretroviral therapy among HIV/AIDS patients in rural China. *Aids*. Dec 2007;21 Suppl 8:S149-155.
9. Padua CA, Cesar CC, Bonolo PF, Acurcio FA, Guimaraes MD. High incidence of adverse reactions to initial antiretroviral therapy in Brazil. *Braz J Med Biol Res*. Apr 2006;39(4):495-505.
10. Ciccolo JT, Jowers EM, Bartholomew JB. The benefits of exercise training for quality of life in HIV/AIDS in the post-HAART era. *Sports Med*. 2004;34(8):487-499.
11. Palermo PCG, Feijó OG. Exercício físico e a infecção pelo HIV: atualização e recomendações. *Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício*. 2003;2:218-246.
12. Terry L, Sprinz E, Stein R, Medeiros NB, Oliveira J, Ribeiro JP. Exercise training in HIV-1-infected individuals with dyslipidemia and lipodystrophy. *Med Sci Sports Exerc*. Mar 2006;38(3):411-417.
13. Niess AM, Simon P. Response and adaptation of skeletal muscle to exercise - the role of reactive oxygen species. *Frontiers in Bioscience*. 2007;12:4826-4838.

14. Deresz LF, Lazzarotto AR, Manfroi WC, et al. Oxidative stress and physical exercise in HIV positive individuals. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2007;13(4):249-252e.
15. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. Jan 2002;82(1):47-95.
16. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem*. Nov 25 1969;244(22):6049-6055.
17. Mittal CK, Murad F. Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Oct 1977;74(10):4360-4364.
18. White AA, Crawford KM, Patt CS, Lad PJ. Activation of soluble guanylate cyclase from rat lung by incubation or by hydrogen peroxide. *J Biol Chem*. Dec 10 1976;251(23):7304-7312.
19. Ignarro LJ, Kadowitz PJ. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1985;25:171-191.
20. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol*. Nov 1987;92(3):639-646.
21. Schreck R, Rieber P, Baeuerle PA. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *Embo J*. Aug 1991;10(8):2247-2258.
22. Anderson D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutat Res*. Feb 19 1996;350(1):103-108.
23. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect*. Dec 1994;102 Suppl 10:5-12.
24. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. Sep 10 1994;344(8924):721-724.
25. Rahman I, Biswas SK, Kode A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur J Pharmacol*. Mar 8 2006;533(1-3):222-239.
26. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr*. Mar 2004;134(3):489-492.

27. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*. Jul 15 2003;189(1-2):41-54.
28. Hulgan T, Morrow J, D'Aquila RT, et al. Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*. Dec 15 2003;37(12):1711-1717.
29. Abrescia P, Golino P. Free radicals and antioxidants in cardiovascular diseases. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. Jan 2005;3(1):159-171.
30. Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol*. Mar 2008;23(3):381-390.
31. Dube MP, Lipshultz SE, Fichtenbaum CJ, Greenberg R, Schechter AD, Fisher SD. Effects of HIV Infection and Antiretroviral Therapy on the Heart and Vasculature. *Circulation*. Jun 19 2008.
32. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 2 ed. Clarendon: Oxford; 1995.
33. Gil L, Martinez G, Gonzalez I, et al. Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients. *Pharmacol Res*. Mar 2003;47(3):217-224.
34. Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS. *HIV Medicine 2006*. Paris: Flying; 2006.
35. Baruchel S, Wainberg MA. The role of oxidative stress in disease progression in individuals infected by the human immunodeficiency virus. *J Leukoc Biol*. Jul 1992;52(1):111-114.
36. Peterhans E. Oxidants and antioxidants in viral diseases: disease mechanisms and metabolic regulation. *J Nutr*. May 1997;127(5 Suppl):962S-965S.
37. Aukrust P, Muller F. Glutathione redox disturbances in human immunodeficiency virus infection: immunologic and therapeutic consequences. *Nutrition*. Feb 1999;15(2):165-167.
38. Aukrust P, Muller F, Svardal AM, Ueland T, Berge RK, Froland SS. Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidant levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy--potential immunomodulatory effects of antioxidants. *J Infect Dis*. Jul 15 2003;188(2):232-238.

39. Price TO, Ercal N, Nakaoka R, Banks WA. HIV-1 viral proteins gp120 and Tat induce oxidative stress in brain endothelial cells. *Brain Res.* May 31 2005;1045(1-2):57-63.
40. Aukrust P, Svardal AM, Muller F, et al. Increased levels of oxidized glutathione in CD4+ lymphocytes associated with disturbed intracellular redox balance in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Blood.* Jul 1 1995;86(1):258-267.
41. Herzenberg LA, De Rosa SC, Dubs JG, et al. Glutathione deficiency is associated with impaired survival in HIV disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mar 4 1997;94(5):1967-1972.
42. Lang CA, Huang A, Ramirez JA, Liu MC. Erythrocytic glutathione and plasma cysteine status of human immunodeficient patients. *Exp Biol Med (Maywood).* Oct 2001;226(9):866-869.
43. van der Ven AJ, Blom HJ, Peters W, et al. Glutathione homeostasis is disturbed in CD4-positive lymphocytes of HIV-seropositive individuals. *Eur J Clin Invest.* Mar 1998;28(3):187-193.
44. Garaci E, Palamara AT, Ciriolo MR, et al. Intracellular GSH content and HIV replication in human macrophages. *J Leukoc Biol.* Jul 1997;62(1):54-59.
45. Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr.* Dec 1995;62(6 Suppl):1315S-1321S.
46. Cimen MY. Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin Chim Acta.* Apr 2008;390(1-2):1-11.
47. Antoniades C, Tousoulis D, Tentolouris C, Toutouzas P, Stefanadis C. Oxidative stress, antioxidant vitamins, and atherosclerosis. From basic research to clinical practice. *Herz.* Nov 2003;28(7):628-638.
48. Tang AM, Graham NM, Semba RD, Saah AJ. Association between serum vitamin A and E levels and HIV-1 disease progression. *Aids.* Apr 1997;11(5):613-620.
49. Singhal N, Austin J. A clinical review of micronutrients in HIV infection. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic Ill).* Spring 2002;1(2):63-75.
50. Allard JP, Aghdassi E, Chau J, et al. Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in HIV-infected subjects. *AIDS.* Sep 10 1998;12(13):1653-1659.



51. Fawzi WW, Msamanga GI, Spiegelman D, et al. A randomized trial of multivitamin supplements and HIV disease progression and mortality. *N Engl J Med*. Jul 1 2004;351(1):23-32.
52. Jaruga P, Jaruga B, Gackowski D, et al. Supplementation with antioxidant vitamins prevents oxidative modification of DNA in lymphocytes of HIV-infected patients. *Free Radic Biol Med*. Mar 1 2002;32(5):414-420.
53. Srinivas A, Dias BF. Antioxidants in HIV positive children. *Indian J Pediatr*. Apr 2008;75(4):347-350.
54. Stephensen CB, Marquis GS, Jacob RA, Kruzich LA, Douglas SD, Wilson CM. Vitamins C and E in adolescents and young adults with HIV infection. *Am J Clin Nutr*. Apr 2006;83(4):870-879.
55. Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. Mar 26 1998;338(13):853-860.
56. Borrell C, Rodriguez-Sanz M, Pazarin MI, et al. AIDS mortality before and after the introduction of highly active antiretroviral therapy: does it vary with socioeconomic group in a country with a National Health System? *Eur J Public Health*. Dec 2006;16(6):601-608.
57. Friis-Moller N, Reiss P, Sabin CA, et al. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. Apr 26 2007;356(17):1723-1735.
58. Currier JS, Lundgren JD, Carr A, et al. Epidemiological evidence for cardiovascular disease in HIV-infected patients and relationship to highly active antiretroviral therapy. *Circulation*. Jul 8 2008;118(2):e29-35.
59. Sudano I, Spieker LE, Noll G, Corti R, Weber R, Luscher TF. Cardiovascular disease in HIV infection. *Am Heart J*. Jun 2006;151(6):1147-1155.
60. Stein JH. Cardiovascular risks of antiretroviral therapy. *N Engl J Med*. Apr 26 2007;356(17):1773-1775.
61. Aukrust P, Luna L, Ueland T, et al. Impaired base excision repair and accumulation of oxidative base lesions in CD4+ T cells of HIV-infected patients. *Blood*. Jun 15 2005;105(12):4730-4735.
62. Tang AM, Smit E, Semba RD, et al. Improved antioxidant status among HIV-infected injecting drug users on potent antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Apr 1 2000;23(4):321-326.

63. Hurwitz BE, Klimas NG, Llabre MM, et al. HIV, metabolic syndrome X, inflammation, oxidative stress, and coronary heart disease risk : role of protease inhibitor exposure. *Cardiovasc Toxicol.* 2004;4(3):303-316.
64. Vincent S, Tourniaire F, El Yazidi CM, et al. Nelfinavir induces necrosis of 3T3F44-2A adipocytes by oxidative stress. *J Acquir Immune Defic Syndr.* Dec 15 2004;37(5):1556-1562.
65. Papparella I, Ceolotto G, Berto L, et al. Vitamin C prevents zidovudine-induced NAD(P)H oxidase activation and hypertension in the rat. *Cardiovasc Res.* Jan 15 2007;73(2):432-438.
66. Garcia de la Asuncion J, Del Olmo ML, Gomez-Cambronero LG, Sastre J, Pallardo FV, Vina J. AZT induces oxidative damage to cardiac mitochondria: protective effect of vitamins C and E. *Life Sci.* Nov 19 2004;76(1):47-56.
67. Roubenoff R. Exercise and HIV infection. *Nutr Clin Care.* 2000;3:230-236.
68. O'Brien K, Tynan AM, Nixon S, Glazier RH. Effects of progressive resistive exercise in adults living with HIV/AIDS: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *AIDS Care.* Jul 2008;20(6):631-653.
69. Spierer DK, DeMeersman RE, Kleinfeld J, et al. Exercise training improves cardiovascular and autonomic profiles in HIV. *Clin Auton Res.* Dec 2007;17(6):341-348.
70. Calabrese LH, LaPerriere A. Human immunodeficiency virus infection, exercise and athletics. *Sports Med.* Jan 1993;15(1):6-13.
71. Roubenoff R, Skolnik PR, Shevitz A, et al. Effect of a single bout of acute exercise on plasma human immunodeficiency virus RNA levels. *J Appl Physiol.* Apr 1999;86(4):1197-1201.
72. Terry L, Sprinz E, Ribeiro JP. Moderate and high intensity exercise training in HIV-1 seropositive individuals: a randomized trial. *Int J Sports Med.* Feb 1999;20(2):142-146.
73. Smith BA, Neidig JL, Nickel JT, Mitchell GL, Para MF, Fass RJ. Aerobic exercise: effects on parameters related to fatigue, dyspnea, weight and body composition in HIV-infected adults. *Aids.* Apr 13 2001;15(6):693-701.
74. Cade WT, Fantry LE, Nabar SR, Keyser RE. Decreased peak arteriovenous oxygen difference during treadmill exercise testing in individuals infected with the human immunodeficiency virus. *Arch Phys Med Rehabil.* Nov 2003;84(11):1595-1603.

75. Duong M, Dumas JP, Buisson M, et al. Limitation of exercise capacity in nucleoside-treated HIV-infected patients with hyperlactataemia. *HIV Med.* Mar 2007;8(2):105-111.
76. Thoni GJ, Fedou C, Brun JF, et al. Reduction of fat accumulation and lipid disorders by individualized light aerobic training in human immunodeficiency virus infected patients with lipodystrophy and/or dyslipidemia. *Diabetes Metab.* Nov 2002;28(5):397-404.
77. Mutimura E, Crowther NJ, Cade TW, Yarasheski KE, Stewart A. Exercise training reduces central adiposity and improves metabolic indices in HAART-treated HIV-positive subjects in Rwanda: a randomized controlled trial. *AIDS Res Hum Retroviruses.* Jan 2008;24(1):15-23.
78. O'Brien K, Nixon S, Tynan AM, Glazier RH. Effectiveness of aerobic exercise in adults living with HIV/AIDS: systematic review. *Med Sci Sports Exerc.* Oct 2004;36(10):1659-1666.
79. Roubenoff R, McDermott A, Weiss L, et al. Short-term progressive resistance training increases strength and lean body mass in adults infected with human immunodeficiency virus. *Aids.* Feb 4 1999;13(2):231-239.
80. Yarasheski KE, Tebas P, Stanerson B, et al. Resistance exercise training reduces hypertriglyceridemia in HIV-infected men treated with antiviral therapy. *J Appl Physiol.* Jan 2001;90(1):133-138.
81. Sattler FR, Jaque SV, Schroeder ET, et al. Effects of pharmacological doses of nandrolone decanoate and progressive resistance training in immunodeficient patients infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Endocrinol Metab.* Apr 1999;84(4):1268-1276.
82. Grinspoon S, Corcoran C, Parlman K, et al. Effects of testosterone and progressive resistance training in eugonadal men with AIDS wasting. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* Sep 5 2000;133(5):348-355.
83. Lindegaard B, Hansen T, Hvid T, et al. The Effect of Strength and Endurance Training on Insulin Sensitivity and Fat Distribution in HIV-Infected Patients with Lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab.* Jul 15 2008.
84. Roubenoff R, Weiss L, McDermott A, et al. A pilot study of exercise training to reduce trunk fat in adults with HIV-associated fat redistribution. *Aids.* Jul 30 1999;13(11):1373-1375.

85. Rojas R, Schlicht W, Hautzinger M. Effect of exercise training on quality of life, psychological well-being, immune status, and cardiopulmonary fitness in an HIV-1 positive population. *Journal of Sport and Exercise Psychology*. 2003;25:440-455.
86. Driscoll SD, Meininger GE, Lareau MT, et al. Effects of exercise training and metformin on body composition and cardiovascular indices in HIV-infected patients. *Aids*. Feb 20 2004;18(3):465-473.
87. Fillipas S, Oldmeadow LB, Bailey MJ, Cherry CL. A six-month, supervised, aerobic and resistance exercise program improves self-efficacy in people with human immunodeficiency virus: a randomised controlled trial. *Aust J Physiother*. 2006;52(3):185-190.
88. Dolan SE, Frontera W, Librizzi J, et al. Effects of a supervised home-based aerobic and progressive resistance training regimen in women infected with human immunodeficiency virus: a randomized trial. *Arch Intern Med*. Jun 12 2006;166(11):1225-1231.
89. Engelson ES, Agin D, Kenya S, et al. Body composition and metabolic effects of a diet and exercise weight loss regimen on obese, HIV-infected women. *Metabolism*. Oct 2006;55(10):1327-1336.
90. Robinson FP, Quinn LT, Rimmer JH. Effects of high-intensity endurance and resistance exercise on HIV metabolic abnormalities: a pilot study. *Biol Res Nurs*. Jan 2007;8(3):177-185.
91. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Vina J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med*. Jan 15 2008;44(2):126-131.
92. Cooper CE, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans*. Apr 2002;30(2):280-285.
93. Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Barstow TJ. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. *Med Sci Sports Exerc*. Aug 1997;29(8):1036-1039.
94. Ramel A, Wagner KH, Elmadfa I. Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. *Br J Sports Med*. Oct 2004;38(5):E22.

95. Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Bello-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. *Can J Appl Physiol*. Dec 2005;30(6):723-734.
96. Ilhan N, Kamanli A, Ozmerdivenli R, Ilhan N. Variable effects of exercise intensity on reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substance levels, and glucose concentration. *Arch Med Res*. Jul-Aug 2004;35(4):294-300.
97. Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wideman L, McKenzie MJ, Consitt LA. Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *J Strength Cond Res*. May 2005;19(2):276-285.
98. Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol*. Mar 2003;89(1):14-20.
99. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med*. Jan 15 2008;44(2):153-159.
100. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev*. Jan 2008;7(1):34-42.
101. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Ann N Y Acad Sci*. May 2006;1067:425-435.
102. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology*. 2005;6(1):71-75.
103. Hollander J, Fiebig R, Gore M, Ookawara T, Ohno H, Ji LL. Superoxide dismutase gene expression is activated by a single bout of exercise in rat skeletal muscle. *Pflugers Arch*. Jun 2001;442(3):426-434.
104. Gomez-Cabrera MC, Martinez A, Santangelo G, Pallardo FV, Sastre J, Vina J. Oxidative stress in marathon runners: interest of antioxidant supplementation. *Br J Nutr*. Aug 2006;96 Suppl 1:S31-33.
105. Brooks SV, Vasilaki A, Larkin LM, McArdle A, Jackson MJ. Repeated bouts of aerobic exercise lead to reductions in skeletal muscle free radical generation and nuclear factor kappaB activation. *J Physiol*. Aug 15 2008;586(16):3979-3990.

## Capítulo 2

### 2. Objetivos

#### 2.1 Objetivo Geral

Comparar os níveis de marcadores de estresse oxidativo e o perfil da resposta imunológica em portadores e não portadores do HIV participantes de uma sessão de exercício aeróbio seguida de uma sessão de exercícios resistidos de moderada intensidade.

#### 2.2 Objetivos Específicos

Descrever e comparar a capacidade funcional avaliada pelo pico do consumo de oxigênio (absoluto e alométrico), segundo limiar ventilatório (absoluto e alométrico) alcançados no teste ergoespirométrico dos indivíduos portadores e não portadores do HIV.

Descrever dos participantes portadores do HIV os valores de T CD4+, T CD8+, carga viral, tempo de TARV e esquema terapêutico.

Comparar as seguintes variáveis entre os dois grupos em três momentos: basal, após o exercício aeróbio e após o exercício resistido:

- A quantidade de T CD4+ e T CD8+;
- O perfil hematológico através das medidas absolutas de linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos;
- A atividade das enzimas antioxidantes glutathione S-transferase e catalase, os níveis de malondialdeído através das medidas das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico e de glutathione total.

## Artigo Original

### O efeito de uma sessão de exercícios aeróbios e resistidos no sistema antioxidante em indivíduos HIV positivos e HIV negativos: um estudo caso-controle

Luís Fernando Deresz<sup>1,2</sup>, Andréa Sebben Kramer<sup>1</sup>, Daniela Reis Joaquim de Freitas<sup>3</sup>,  
Giovani Cunha<sup>4</sup>, Alvaro Reischak de Oliveira<sup>4</sup>, Heloisa Sporleder<sup>5</sup> Eduardo Sprinz<sup>6</sup>,  
Alexandre Ramos Lazzarotto<sup>2,8</sup>, Pedro Dall'Ago<sup>1,8,9</sup>

1 – Programa de Pós-Graduação Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares da FAMED/UFRGS; Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil;

2 – Pró-Vida ESEF-UFRGS

3 – Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFCSPA; Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil;

4 – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano, Laboratório de Pesquisa do Exercício, Escola de Educação Física, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil;

5 – Instituto de Pesquisas Biológicas/Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul

6 – Departamento de Medicina Interna HCPA/UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil ;

7 – Centro Universitário FEEVALE, Novo Hamburgo, Rio Grande do Sul, Brasil

8 – Curso de Fisioterapia do Centro Universitário La Salle – UNILASALLE, Canoas, Rio Grande do Sul, Brasil;

9 – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas e Departamento de Ciências Fisiológicas – UFCSPA, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

**Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES e FIPE/HCPA

**Título resumido:** Estresse Oxidativo e Exercício Físico em HIV

**Autor para Correspondência:**

Pedro Dall'Ago, PT, ScD

Departamento de Ciências Fisiológicas – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFSCPA

Sarmento Leite, 245/308, 90050-170, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Tel. +55 51 33038751/ Fax +55 51 33038810

e-mail: [pdallago@pq.cnpq.br](mailto:pdallago@pq.cnpq.br)

## **Resumo**

**Objetivo:** Comparar marcadores de estresse oxidativo e o perfil imunológico de portadores e não portadores do HIV participantes de uma sessão de exercício aeróbio seguida de exercícios resistidos de moderada intensidade.

**Métodos:** Estudo caso-controle composto por portadores (grupo HIV) e não portadores do HIV (grupo controle). O protocolo de exercícios contemplou 20 minutos em cicloergômetro e 6 exercícios resistidos. Foram medidas a atividade das enzimas glutationa S-transferase (GST) e catalase (CAT), os níveis de glutationa total (GSht), espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), células T CD4+, T CD8+, carga viral, hemograma e leucograma em 3 momentos: antes e após os exercícios aeróbio e resistido.

**Resultados:** A atividade da GST mostrou-se menor no repouso no grupo HIV quando comparado com o grupo controle ( $P=0,04$ ), mas aumenta e os valores se equivalem após os exercícios resistidos. A GSht foi menor no grupo HIV comparados com o grupo controle nos três momentos ( $P=0,013$ ), aeróbio ( $P=0,003$ ) e força ( $P=0,003$ ) e os controles apresentaram maiores valores de TBARS após o exercício aeróbio quando comparados com o grupo HIV ( $P=0,007$ ). O grupo HIV apresenta menor quantidade de neutrófilos após os exercícios aeróbio ( $P=0,03$ ) e resistido ( $P=0,05$ ) quando comparado com os controles.

**Conclusão:** Os portadores do HIV apresentam menor capacidade antioxidante em repouso. A sessão de exercícios estimulou a atividade da GST similarmente nos dois grupos, indicando que a resposta enzimática antioxidante é semelhante durante o exercício entre os grupos estudados.

Palavras chave: HIV, exercício físico, estresse oxidativo.



## Introdução

O desenvolvimento da terapia anti-retroviral combinada (TARV) causou significativa supressão viral e resultou na dramática redução da morbidade e da mortalidade associada ao vírus da imunodeficiência humana (HIV)<sup>1, 2</sup>. Mesmo com a melhora nos parâmetros clínicos, virais e imunológicos proporcionados pela TARV, os portadores do HIV continuam apresentando espécies reativas de oxigênio (ERO) e produtos da lipoperoxidação aumentados, bem como reduzida capacidade antioxidante, configurando estresse oxidativo (EO)<sup>3-6</sup>. Estresse oxidativo é o termo geralmente utilizado para descrever os danos celulares causados pelas ERO e é determinado pelo desequilíbrio entre a atividade pró-oxidante e antioxidante que resulta em aumento da formação de radicais livres e induz a injúrias oxidativas<sup>7, 8</sup>.

O EO contribui para a evolução da infecção pelo HIV e o desenvolvimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) por diminuir a capacidade imune<sup>3, 7, 9</sup> e, quando associado às alterações no perfil lipídico e glicolítico, decorrentes da TARV e da própria infecção viral, aumenta os riscos de doença cardiovascular na população com SIDA<sup>10-12</sup>.

O treinamento físico tem demonstrado potencial efeito antioxidante em indivíduos não portadores do HIV, evidenciado através do incremento nos níveis da glutathiona (GSH), no aumento da atividade de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona S-transferase (GST) e de antioxidantes solúveis, além da redução nos marcadores de EO como o malondialdeído (MDA) e etano expirado em resposta ao exercício<sup>13-16</sup>. Estas adaptações são responsáveis, pelo menos em parte, pela reduzida incidência de doenças associadas ao EO, como as doenças cardíacas, diabetes tipo II e alguns tipos de cânceres em indivíduos regularmente treinados<sup>17</sup>.

Como a adaptação antioxidante proporcionada pelo treinamento é resultado do acúmulo de efeitos de repetidas séries de exercícios, a resposta aguda pode ser um primeiro indicador desta adaptação<sup>18</sup>, processo que pode ser desencadeado pelas ERO induzidas pelo exercício<sup>17-21</sup>.

Embora o treinamento físico seja considerado uma estratégia efetiva para melhora dos parâmetros cardiorrespiratórios, psicológicos e da composição muscular de portadores do HIV<sup>22, 23</sup> os efeitos do exercício físico na capacidade antioxidante e a sua repercussão na função imune desses portadores não estão completamente

elucidados. A partir das premissas citadas anteriormente, o objetivo deste trabalho foi comparar os níveis de marcadores de estresse oxidativo e o perfil da resposta imunológica em portadores e não portadores do HIV participantes de uma sessão de exercício aeróbio seguida de uma sessão de exercícios resistidos de moderada intensidade.

## **Materiais e métodos**

### **Amostra**

Este foi um estudo caso-controle composto por portadores e não portadores do HIV. Os participantes do grupo HIV (portadores do HIV-1) foram oriundos do ambulatório de HIV/SIDA do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), enquanto que o grupo controle (não portadores de HIV-1) foi formado por voluntários da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Os grupos foram pareados por sexo, idade e nível de atividade física verificado pela versão curta do questionário internacional de atividade física (*International Physical Activity Questionnaire - IPAQ*).

Foram utilizados como critérios de inclusão no grupo HIV: estar utilizando o mesmo esquema terapêutico da TARV há no mínimo 6 meses, ser classificado como insuficientemente ativo pelo IPAQ, ter condições clínicas, via atestado médico, de realizar exercícios físicos e não utilizar suplementação antioxidante. Para o grupo controle, foram considerados os mesmos critérios descritos acima, acrescentando a sorologia negativa para HIV-1 (via exame anti-HIV-1). Indivíduos fumantes, diabéticos, cardiopatas, dislipidêmicos, mulheres grávidas, portadores de doenças neurológicas e com limitações funcionais foram excluídos do estudo.

Para minimizar os efeitos das variações circadianas todos os testes foram realizados no turno da manhã. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética do grupo de pesquisa e pós-graduação do HCPA (número de aprovação 06-067) e os participantes leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, no momento da entrada no estudo.

### **Teste ergoespirométrico**

O teste ergoespirométrico foi utilizado para quantificar o pico do consumo de oxigênio ( $VO_{2pico}$ ), utilizando um protocolo de rampa em cicloergômetro (*The Byke, Cybex*, EUA). O  $VO_{2pico}$  foi considerado o maior valor do consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) em função do tempo<sup>24</sup> e o segundo limiar ventilatório foi considerado como a mínima

carga em que os equivalentes ventilatórios para o O<sub>2</sub> (VE/VO<sub>2</sub>) apresentaram um aumento concomitante com os equivalentes ventilatórios para o CO<sub>2</sub> (VE/VCO<sub>2</sub>)<sup>25</sup>.

O teste iniciou com a carga de 25W, com um incremento de 25W/min e os participantes mantinham a cadência de pedalada entre 60 e 90 rotações por minuto (RPM). A interrupção do teste ocorreu quando solicitada pelo participante; quando a cadência não era mantida acima de 60 RPM; quando a razão da troca respiratória foi maior que 1,1; ou quando se observou um platô na curva de consumo de oxigênio<sup>26</sup>. A análise dos gases foi realizada no equipamento de ergoespirometria *Medgraphics Cardiorespiratory Diagnostic Systems*, modelo MGC/CPX-D, EUA (software Breeze 3.06) e o monitoramento da frequência cardíaca foi realizado através do cardiocômetro da marca *Polar* modelo S610.

### **Consumo de oxigênio alométrico (VO<sub>2</sub>alo)**

Os expoentes para o VO<sub>2</sub>alo foram calculados através da função potência (VO<sub>2</sub>pico = aMb), onde (a) é uma constante de escala e (b) é o valor do expoente referente à massa corporal. Este expoente foi determinado através da análise de regressão linear após se obter o logaritmo da equação da função potência  $\log(\text{VO}_2\text{pico}) = \log a + b \log M$ .

### **Teste de força de resistência**

Para avaliar a força de resistência foi utilizado o teste de 15 repetições máximas (RM) nos exercícios voador, roldana alta, pressão de pernas, rosca bíceps e rosca tríceps. Para verificar a resistência do abdômen, denominada de exercício abdominal, foi realizado o teste que consistiu em executar o maior número possível de flexões de tronco durante 1 minuto<sup>27</sup>.

### **Protocolo de exercício aeróbio e resistido**

A sessão de exercício aeróbio e resistido foi realizada, no mínimo, 48 horas depois dos testes ergoespirométrico e de força.

Exercício aeróbio: 20 minutos em bicicleta ergométrica na frequência cardíaca (FC) correspondente a 60% do VO<sub>2</sub>pico, monitorada através de cardiocômetro da marca *Polar*, modelo FS1.

Exercício resistido: série simples de 15 RM para cada exercício descrito acima, exceto para o exercício abdominal, no qual foram realizadas 50% do número de repetições obtidas no teste de 1 minuto.

### **Coletas sanguíneas**

A coleta de sangue foi realizada pela punção na veia mediana (intermédia) do antebraço de cada participante. Após a coleta com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA 0,15% de solução volume/volume final) os 4 tubos, cada um com 4 ml de sangue, foram separados para as análises de T CD4+ e T CD8+, carga viral (nos portadores do HIV), perfil hematológico e análise do estresse oxidativo. As amostras foram centrifugadas a 3000 rotações por minuto durante 15 minutos. Para a análise da CAT e GST foram separados 2 ml de plasma e congelados a -80°C até o momento da análise. Para a glutatona total (GSht) e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid-reactive substances* – TBARS) foram separados 300 µl de concentrado de hemácias e adicionados 900 µl de ácido metafosfórico 5% e congelados a -80°C para posterior análise.

As coletas foram realizadas em 3 momentos: basal (antes do teste ergoespirométrico), aeróbio (imediatamente após o exercício aeróbio) e força (imediatamente após o exercício resistido).

### **Análise dos parâmetros imunológicos e virológicos**

A quantificação dos linfócitos T CD4+ e T CD8+ foi realizada pela técnica de citometria de fluxo, no equipamento Sistema *BD FACSCalibur™*. Para a carga viral foi utilizado o teste *VERSANT HIV-1 RNA 3.0 Assay* (bDNA) pelo equipamento *Analyzer Quantiplex System 340*.

### **Análise do perfil hematológico**

O leucograma e o hemograma foram realizados por citometria de fluxo no aparelho Sysmex XE2100 com revisão microscópica.

### **Análise bioquímica do estresse oxidativo**

**Glutationa S-transferase (GST):** a atividade da GST foi determinada em plasma conforme descrito por Habig et al.<sup>28</sup> usando 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB)

(Sigma) como substrato. Aproximadamente 90  $\mu\text{l}$  da mistura de reação, com 50 mM de CDNB em metanol, 5 mM de glutathiona (Sigma) em 100 mM de Tris-HCl pH 8,0, foram adicionados a 10  $\mu\text{l}$  de plasma, em um volume total de 100  $\mu\text{l}$  de Tris-HCl pH 8,0. Uma amostra sem plasma foi usada como controle negativo. A concentração do produto formado foi calculada usando o coeficiente de extinção de  $9,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  para S-(2,4- dinitrofenil glutathiona). A concentração de proteína da amostra foi medida utilizando o método de Bradford<sup>29</sup>. Cada amostra foi processada em duplicata, em três diferentes experimentos e os resultados estão expressos micromol/minuto/miligramma de proteína.

**Catalase (CAT):** A atividade da CAT foi realizada em plasma como descrito por Aebi<sup>30</sup>. Aproximadamente 100  $\mu\text{l}$  de plasma diluído em 100  $\mu\text{L}$  de Tris-HCl 10 mM pH 8,0 foram adicionados a 800  $\mu\text{l}$  de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 9 mM, tendo como volume final 1 ml. A atividade da CAT foi determinada por espectrofotometria através do monitoramento do desaparecimento do  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 240 nanômetros, usando um coeficiente de extinção de  $43,6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ <sup>30</sup>. Os resultados são expressos em U/miligramma de proteína. As análises foram realizadas em três experimentos independentes, todos em duplicata.

**Lipoperoxidação:** Os produtos da lipoperoxidação foram detectados através da determinação de TBARS conforme descrito por Buege<sup>31</sup>. Foram utilizados 50  $\mu\text{l}$  de concentrado de hemácias diluído em 200  $\mu\text{l}$  de ácido tricloroacético 30% e agitados por 1 minuto. A essa solução foram adicionados 200  $\mu\text{l}$  de Tris-HCl e a mesma foi novamente agitada por 1 minuto. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 2500g a 4 °C e destas foi coletado um volume de 440  $\mu\text{l}$  do sobrenadante e adicionados 200  $\mu\text{l}$  de ácido tiobarbitúrico 0,73% e 10  $\mu\text{l}$  de di-terc-butil metil fenol (BHT) 0,01%. As amostras foram incubadas a 80 °C por 15 minutos e lidas a 535 nanômetros. As análises foram realizadas em dois experimentos feitos em duplicata. A quantidade de TBARS formada foi expressa em picomol/miligramma de proteína.

**Glutathiona total (GSht):** O conteúdo de GSht foi medido em concentrado de hemácias usando o kit *Glutathione Assay* (Sigma, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. As medidas foram feitas em duplicatas e os resultados expressos em nmoles GSH/mililitro de amostra.

### **Análise estatística e cálculo amostral**

A análise estatística foi desenvolvida por procedimentos descritivos (medidas de tendência central e dispersão). Foram utilizados os testes estatísticos ANOVA para medidas repetidas, Friedman, Teste *t* para amostras emparelhadas ou Wilcoxon de acordo com os critérios de normalidade avaliados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando verificadas alterações significativas na ANOVA, o teste post hoc de tukey foi utilizado para localizar a origem das diferenças. O nível de significância considerado foi  $p < 0,05$  e as análises foram realizadas no programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS-Pacote Estatístico para as Ciências Sociais) for Windows, versão 13.0.

Considerando o nível de significância de 0,05, erro beta de 0,10 e para detectar uma diferença de 20% nos níveis de GSHt em resposta ao exercício foram estimados 14 participantes em cada grupo.

### **Resultados**

A amostra foi composta de 28 participantes (14 em cada grupo). Todos responderam a uma anamnese sobre a saúde em geral. Os participantes do grupo HIV não utilizavam nenhum medicamento além dos incluídos na TARV (esquemas descritos na tabela 1) e os participantes do grupo controle relataram não utilizar nenhum medicamento.

### **Teste ergoespirométrico**

Os participantes do grupo controle apresentaram valores significativamente maiores quando comparados com o grupo HIV o  $VO_2$  pico absoluto ( $2167,5 \pm 597,7$  vs.  $1673 \pm 349,2$  ml.min<sup>-1</sup>;  $P=0,007$ ) e alométrico ( $86,4 \pm 14,9$  vs.  $75,8 \pm 12,6$  ml.kg<sup>-0,75</sup>.min<sup>-1</sup>;  $P=0,04$ ). Da mesma forma, os valores para o segundo limiar ventilatório absoluto ( $1554,8 \pm 528,4$  vs.  $1143,9 \pm 294,5$  ml.min<sup>-1</sup>;  $P=0,015$ ) e alométrico ( $61,4 \pm 13,2$  vs.  $51,6 \pm 9,19$  ml.kg<sup>-0,75</sup>.min<sup>-1</sup>;  $P=0,03$ ) alcançados em teste foram significativamente maiores no grupo controle.

Tabela 1: Características dos participantes do estudo

	Grupo HIV	Grupo controle	P
n (h/m)	14(7/7)	14(7/7)	
Idade (anos)	39,2 ± 8,7	36 ± 10,6	0,06
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	23,1 ± 4,6	26,4 ± 4,3	0,1
Carga Viral (cópias/ml)			
Indetectável	7	-	
>50 e <500	6	-	
=19.690	1	-	
Esquema de TARV			
IP+r	5	-	
ITRNN	6	-	
ATZ	3	-	
Tempo de TARV (anos)	5,7 ± 3,3	-	

IMC: índice de massa corporal (peso/altura<sup>2</sup>), IP+r: Inibidor de protease + ritonavir, ITRNN: inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; ATZ: atazanavir. Resultados estatísticos obtidos através do Teste *t* para amostras emparelhadas.

### Parâmetros imunológicos, virológicos e perfil hematológico

Considerando a análise intra-grupo, para o número de células T CD4+, T CD8+ e carga viral, não foram evidenciadas diferenças significativas pela sessão de exercícios. Na comparação inter-grupos, os controles apresentaram quantidades estatisticamente maiores das células T CD4+ nos 3 momentos analisados. Para as células T CD8+, o grupo HIV apresentou valores significativamente maiores no momento basal e força.

Na contagem dos neutrófilos, quando comparados os 3 tempos no mesmo grupo, não foram observadas alterações significativas. No entanto, na análise entre os grupos os valores foram maiores nos controles após o exercício aeróbio e de força. Resposta semelhante ocorreu com os basófilos, porém, a diferença entre os grupos ocorreu somente depois do exercício aeróbio. Para os linfócitos, monócitos e eosinófilos não houve diferença significativa nas análises intra e inter-grupos. Os valores detalhados estão expressos na tabela 2.

Tabela 2: Valores das variáveis imunológicas

Células/ $\mu$ l	Grupo HIV			Grupo controle		
	Basal	Aeróbio	Força	Basal	Aeróbio	Força
T CD4+	417 (116-1132)	428 (70-811)	378 (70-981)	984 (594-2145)*	968 (553-1587)†	974 (643-1411)‡
T CD8+	980 (379-1829)	1106 (360-1101)	1210 (345-2683)	576 (260-1223)§	665 (316-2003)	661 (316-1792)
Linfócitos	1960 (1309-3037)	2050 (1420-3231)	2043 (1351-3883)	2137 (1420-3856)	2191(1729-3820)	2223 (1508-3784)
Neutrófilos	3237 (1901-4270)	3285 (1610-5476)	3511 (1531-5977)	3212 (2328-4174)	3476 (2184-9236)¶	3563 (2422-9214)**

Os valores estão expressos em mediana (valor mínimo – valor máximo). \*P=0,004 para HIV vs. controles no basal; †P=0,002 para HIV vs. controles no aeróbio; ‡P=0,001 HIV vs. controles no força; §P=0,02 para HIV vs. controles no basal, ||P=0,03 para HIV vs. controles no força; ¶P=0,03 HIV vs. controles no aeróbio; \*\*P=0,05 para HIV vs. controles no força. Para a análise intra-grupo foi utilizado o teste de Friedman e o teste de Wilcoxon para verificar a origem das diferenças e na análise inter-grupos foi utilizado o teste de Wilcoxon.

### Glutathione S-transferase

No grupo HIV a atividade desta enzima aumentou após o exercício de força quando comparado com os momentos basal (P=0,03) e aeróbio (P=0,02). No grupo controle, ela diminuiu após o exercício aeróbio (P=0,02), porém retornou aos valores basais após o exercício de força. Quando comparados os valores inter-grupos, o grupo HIV mostrou valores significativamente menores no momento basal (P=0,04) diferença que foi compensada pelos exercícios (Figura 1A).

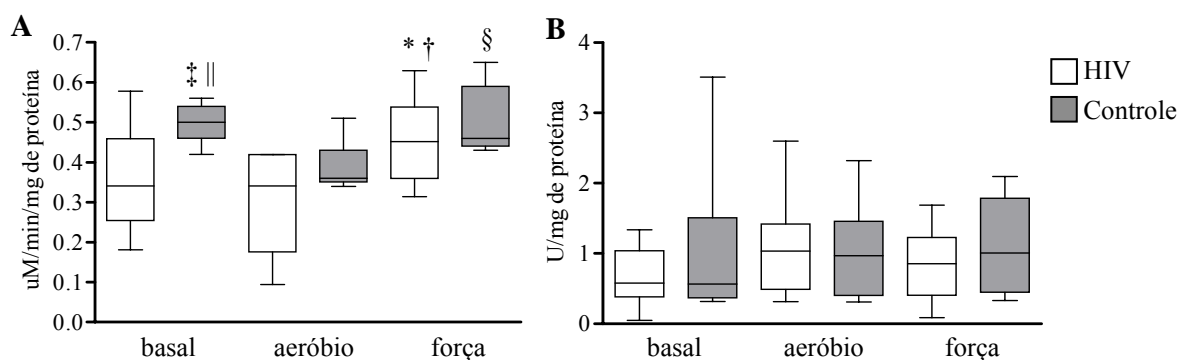
### Catalase

A atividade da CAT não apresentou diferenças significativas nas análises intra e inter-grupos (Figura 1B).

### Lipoperoxidação

Os valores de TBARS não apresentaram diferenças significativas em resposta ao exercício no grupo HIV. No grupo controle, houve um aumento significativo nos níveis deste marcador após o exercício aeróbio quando comparado com o momento basal. Na comparação entre os grupos, os valores do TBARS foram significativamente maiores após o exercício aeróbio no grupo controle (Figura 2 A).

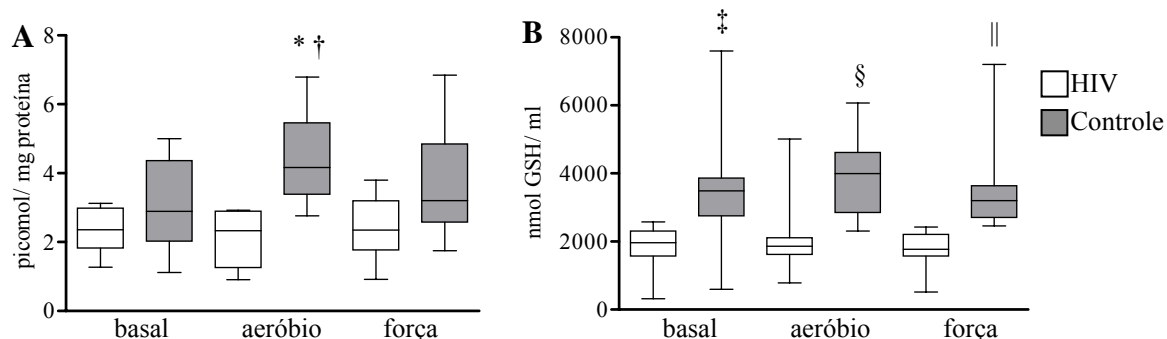




**Figura 1: Atividade da GST (A) e CAT (B).** Os valores estão expressos em mediana (valor mínimo – máximo). Comparação no grupo HIV: \* $P=0,03$  força vs. basal e † $P=0,02$  força vs. aeróbio; Comparação no grupo controle: ‡ $P=0,02$  basal vs. aeróbio e § $P=0,02$  força vs. aeróbio; Comparação entre os grupos no momento basal: || $P=0,04$ . Para a comparação intra-grupo foi utilizado o Teste de Friedman e o Teste de Wilcoxon para verificar a origem das diferenças encontradas e na comparação inter-grupos foi o utilizado o teste de Wilcoxon.

### Glutationa total

Na análise intra-grupo os exercícios não promoveram alterações significativas nos níveis da GSht. Na comparação entre os grupos, o grupo HIV apresentou valores significativamente menores de GSht nos 3 tempos quantificados (Figura 2 B).



**Figura 2: Níveis de TBARS (A) e GSht (B).** Os valores estão expressos em mediana (valor mínimo – máximo). \* $P=0,005$  aeróbio vs. basal no grupo controle; † $P=0,007$  HIV vs. controles no momento aeróbio; ‡ $P=0,01$ , § $P=0,003$  e || $P=0,003$  para HIV vs. controle nos momentos basal, aeróbio e força respectivamente. Para a comparação intra-grupo foi utilizado o Teste de Friedman e o Teste de Wilcoxon para verificar a origem das diferenças encontradas e na comparação inter-grupos foi utilizado o teste de Wilcoxon.

### Discussão

O principal objetivo desse trabalho foi comparar o efeito de uma única sessão de exercício aeróbio e resistido de intensidade moderada nos marcadores de estresse oxidativo e no perfil da resposta imunológica de portadores do HIV em uso de TARV

com indivíduos não portadores do vírus. Mesmo com os consistentes resultados indicando adaptação da capacidade antioxidante ao treinamento físico em estudos anteriores<sup>13-15</sup>, este é o primeiro trabalho que se propôs a investigar o efeito do exercício físico no estado redox e no perfil imunológico em portadores de HIV.

Os resultados deste estudo mostram que, embora a atividade da GST estava diminuída no momento basal no grupo HIV, a atividade da mesma aumenta após os exercícios, tornando-se similar ao grupo controle. Além disso, o protocolo de exercício utilizado proporcionou aumento de TBARS após o exercício aeróbio somente no grupo controle. Por outro lado, as concentrações de GSHt foram significativamente menores no grupo HIV.

O presente trabalho foi o primeiro que comparou a atividade da GST entre indivíduos portadores e não portadores do HIV. Em repouso, foram verificados menores valores para o grupo HIV, porém, essa diferença foi suprimida após o exercício de força. O aumento da atividade da GST pós-exercício de força já foi encontrado por biópsia muscular em seres humanos<sup>32</sup>, bem como em resposta ao treinamento<sup>33</sup>. Os autores sugerem que o incremento na atividade desta enzima é uma tentativa de conter o EO induzido pelo exercício. Por outro lado, a explicação para a redução da atividade desta enzima após o exercício aeróbio não está bem esclarecida. No entanto, a menor atividade de enzimas antioxidantes em resposta ao exercício já foi observada em outros trabalhos<sup>34, 35</sup>. Como a GST catalisa a conjugação da GSH com xenobióticos e radicais livres, reduzindo a toxicidade destes<sup>36</sup>, é possível que o consumo da GSH para regenerar os dois maiores antioxidantes, ácido ascórbico e  $\alpha$ -tocoferol, ou neutralizar o anion superóxido e o oxigênio singlet<sup>37</sup>, pode restringir a sua biodisponibilidade e limitar atividade da GST.

Por outro lado, a atividade da CAT não foi modificada pelos exercícios nos dois grupos avaliados. Este resultado está de acordo com os dados da literatura<sup>35, 38</sup>. A manutenção da atividade da CAT pode ser explicada pela menor afinidade dela ao peróxido de hidrogênio do que a glutathione peroxidase, como mostra a literatura<sup>39</sup>.

Foram confirmados os níveis reduzidos da GSHt nos portadores do HIV, indicando menores níveis deste antioxidante nesta população<sup>40</sup>. Adicionalmente, nós podemos verificar uma associação entre a capacidade antioxidante e a função imunológica<sup>3, 6</sup>. Por outro lado, mesmo com o valor estaticamente menor do que no grupo controle, eles foram superiores aos encontrados em outro estudo com portadores

do HIV<sup>40</sup>. Esta diferença pode estar associada à fase de replicação viral e aos métodos utilizados para quantificar os níveis da GSht<sup>41</sup>.

A resposta do EO ao exercício é bastante complexa. Além da atividade de enzimas e substâncias antioxidantes, ela é dependente do tempo e da intensidade em que o exercício é realizado, assim como do estado nutricional e da condição física do participante<sup>38, 39, 42</sup>. A lipoperoxidação é uma das formas mais utilizadas para verificar o dano induzido pelo EO. Neste trabalho, foi verificado aumento do TBARS, o que representa aumento da lipoperoxidação, após o exercício aeróbio no grupo controle. Como descrito acima, o desequilíbrio entre os mecanismos pró-oxidante e antioxidante é que vai determinar o EO. Foram verificadas maiores quantidades de neutrófilos após os exercícios no grupo controle, e conforme já foi citado, estas células podem liberar ERO<sup>43</sup>. Este fato, associado a outros mecanismos pró-oxidativos induzidos pelo exercício<sup>39, 42</sup> aliado a diminuição da atividade da GST aqui observada, pode explicar o aumento de TBARS somente no grupo controle. O incremento na atividade da GST, a exposição ao maior tempo de exercício e a diferença entre metabolismo utilizado entre os exercícios aeróbio e resistido<sup>34, 42</sup>, aparentemente, foram suficientes para minimizar o dano oxidativo após o exercício resistido nos dois grupos investigados.

A sessão de exercícios não modificou significativamente a quantidade das células imunológicas nos grupos estudados. Conforme esperado, a contagem de T CD4+ foi maior no grupo controle nos três momentos analisados, com o inverso ocorrendo nas células T CD8+, exceto após o exercício aeróbio. A inversão dos valores de T CD4+ e T CD8+ nos portadores do HIV é um fenômeno em descrito na literatura<sup>44</sup>. Com relação aos neutrófilos, o grupo HIV apresentou valores menores após os exercícios aeróbio e resistido quando comparados com o grupo controle. Os maiores valores dos neutrófilos observados no grupo controle pode ser explicado pelo uso da TARV<sup>45, 46</sup>, pois todos os participantes do grupo HIV estava utilizando zidovudina, uma droga conhecida pela sua mielotoxicidade.

Com relação à capacidade funcional, os resultados do presente estudo corroboram as informações da literatura, os quais mostram que os indivíduos HIV apresentam limitada capacidade funcional quando comparados com não portadores do vírus com idade e nível de atividade física semelhantes<sup>47-49</sup>.

A aplicabilidade dos resultados deste estudo é limitada pelo tamanho relativamente pequeno da amostra. Além disso, o acompanhamento a longo prazo é necessário para avaliar se a melhora no mecanismo antioxidante permanece após a

sessão de exercícios. Também não se sabe como é a resposta antioxidante do exercício em portadores do HIV que não estão em uso de TARV. Finalmente, o controle alimentar e o uso de técnicas mais específicas e de outros marcadores de EO podem contribuir para melhorar os resultados do trabalho.

Em síntese, os principais resultados deste estudo indicam que: 1) o exercício físico estimula a atividade da GST de forma semelhante nos dois grupos, 2) a atividade da CAT mostrou-se similar nos dois grupos; 3) o aumento significativo de TBARS após o exercício aeróbio pode estar associado à maior atividade dos neutrófilos no grupo controle; e 4) baseados nos valores de GSHt, podemos afirmar que os portadores do HIV apresentam limitada capacidade antioxidante quando comparados ao grupo controle.

Estes resultados indicam uma resposta enzimática semelhante entre portadores e não portadores do HIV ao exercício físico. Isto sugere que o exercício físico gera níveis similares de EO e, por esta via, estimula o mecanismo antioxidante de ambos os grupos. Desta forma, a utilização do treinamento físico como uma estratégia antioxidante possa ser considerada em portadores do HIV.

**Referências**

1. Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med.* Mar 26 1998;338(13):853-860.
2. Borrell C, Rodriguez-Sanz M, Pasarin MI, et al. AIDS mortality before and after the introduction of highly active antiretroviral therapy: does it vary with socioeconomic group in a country with a National Health System? *Eur J Public Health.* Dec 2006;16(6):601-608.
3. Gil L, Martinez G, Gonzalez I, et al. Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients. *Pharmacol Res.* Mar 2003;47(3):217-224.
4. Aukrust P, Muller F, Svardal AM, Ueland T, Berge RK, Froland SS. Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidant levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy--potential immunomodulatory effects of antioxidants. *J Infect Dis.* Jul 15 2003;188(2):232-238.
5. Allard JP, Aghdassi E, Chau J, et al. Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in HIV-infected subjects. *AIDS.* Sep 10 1998;12(13):1653-1659.
6. Walmsley SL, Winn LM, Harrison ML, Uetrecht JP, Wells PG. Oxidative stress and thiol depletion in plasma and peripheral blood lymphocytes from HIV-infected patients: toxicological and pathological implications. *AIDS.* Nov 15 1997;11(14):1689-1697.
7. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* Jan 2002;82(1):47-95.
8. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect.* Dec 1994;102 Suppl 10:5-12.
9. Stehbens WE. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. *Exp Mol Pathol.* Oct 2004;77(2):121-132.
10. Friis-Moller N, Reiss P, Sabin CA, et al. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med.* Apr 26 2007;356(17):1723-1735.

11. Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol*. Mar 2008;23(3):381-390.
12. Masia M, Padilla S, Bernal E, et al. Influence of antiretroviral therapy on oxidative stress and cardiovascular risk: a prospective cross-sectional study in HIV-infected patients. *Clin Ther*. Jul 2007;29(7):1448-1455.
13. Linke A, Adams V, Schulze PC, et al. Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure: increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. *Circulation*. Apr 12 2005;111(14):1763-1770.
14. Nojima H, Watanabe H, Yamane K, et al. Effect of aerobic exercise training on oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. Feb 2008;57(2):170-176.
15. Elokda AS, Nielsen DH. Effects of exercise training on the glutathione antioxidant system. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. Oct 2007;14(5):630-637.
16. Brooks SV, Vasilaki A, Larkin LM, McArdle A, Jackson MJ. Repeated bouts of aerobic exercise lead to reductions in skeletal muscle free radical generation and nuclear factor kappaB activation. *J Physiol*. Aug 15 2008;586(16):3979-3990.
17. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med*. Jan 15 2008;44(2):153-159.
18. Hollander J, Fiebig R, Gore M, Ookawara T, Ohno H, Ji LL. Superoxide dismutase gene expression is activated by a single bout of exercise in rat skeletal muscle. *Pflugers Arch*. Jun 2001;442(3):426-434.
19. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Vina J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med*. Jan 15 2008;44(2):126-131.
20. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Ann N Y Acad Sci*. May 2006;1067:425-435.
21. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology*. 2005;6(1):71-75.
22. O'Brien K, Tynan AM, Nixon S, Glazier RH. Effects of progressive resistive exercise in adults living with HIV/AIDS: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *AIDS Care*. Jul 2008;20(6):631-653.
23. O'Brien K, Nixon S, Tynan AM, Glazier RH. Effectiveness of aerobic exercise in adults living with HIV/AIDS: systematic review. *Med Sci Sports Exerc*. Oct 2004;36(10):1659-1666.

24. Hebestreit H, Staschen B, Hebestreit A. Ventilatory threshold: a useful method to determine aerobic fitness in children? *Med Sci Sports Exerc.* Nov 2000;32(11):1964-1969.
25. Wasserman K, McIlroy MB. Detecting the Threshold of Anaerobic Metabolism in Cardiac Patients During Exercise. *Am J Cardiol.* Dec 1964;14:844-852.
26. Howley ET, Bassett DR, Jr., Welch HG. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc.* Sep 1995;27(9):1292-1301.
27. Badillo JJG, Ayestarán EG. *Fundamentos do treinamento de força: aplicação ao alto rendimento desportivo.* 2 ed. Porto Alegre: Artemed; 2001.
28. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* Nov 25 1974;249(22):7130-7139.
29. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* May 7 1976;72:248-254.
30. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-126.
31. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-310.
32. Rietjens SJ, Beelen M, Koopman R, LJ VANL, Bast A, Haenen GR. A single session of resistance exercise induces oxidative damage in untrained men. *Med Sci Sports Exerc.* Dec 2007;39(12):2145-2151.
33. Souza-Rabbo MP, Silva LF, Auzani JA, Picoral M, Khaper N, Bello-Klein A. Effects of a chronic exercise training protocol on oxidative stress and right ventricular hypertrophy in monocrotaline-treated rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* Aug 2008;35(8):944-948.
34. Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol.* Mar 2003;89(1):14-20.
35. Gul M, Demircan B, Taysi S, et al. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* Feb 2006;143(2):239-245.
36. Wilce MC, Parker MW. Structure and function of glutathione S-transferases. *Biochim Biophys Acta.* Mar 16 1994;1205(1):1-18.

37. Ji LL. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. *Exerc Sport Sci Rev.* 1995;23:135-166.
38. Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Bello-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. *Can J Appl Physiol.* Dec 2005;30(6):723-734.
39. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* Jul 15 2003;189(1-2):41-54.
40. Jariwalla RJ, Lalezari J, Cenko D, et al. Restoration of blood total glutathione status and lymphocyte function following alpha-lipoic acid supplementation in patients with HIV infection. *J Altern Complement Med.* Mar 2008;14(2):139-146.
41. Garaci E, Palamara AT, Ciriolo MR, et al. Intracellular GSH content and HIV replication in human macrophages. *J Leukoc Biol.* Jul 1997;62(1):54-59.
42. Niess AM, Simon P. Response and adaptation of skeletal muscle to exercise - the role of reactive oxygen species. *Frontiers in Bioscience.* 2007;12:4826-4838.
43. Peake J, Suzuki K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol Rev.* 2004;10:129-141.
44. Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS. HIV Medicine-2006; 2006.
45. Richman DD, Fischl MA, Grieco MH, et al. The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med.* Jul 23 1987;317(4):192-197.
46. Levine AM, Karim R, Mack W, et al. Neutropenia in human immunodeficiency virus infection: data from the women's interagency HIV study. *Arch Intern Med.* Feb 27 2006;166(4):405-410.
47. Cade WT, Peralta L, Keyser RE. Aerobic exercise dysfunction in human immunodeficiency virus: a potential link to physical disability. *Phys Ther.* Jul 2004;84(7):655-664.
48. Cade WT, Fantry LE, Nabar SR, Keyser RE. Decreased peak arteriovenous oxygen difference during treadmill exercise testing in individuals infected with the human immunodeficiency virus. *Arch Phys Med Rehabil.* Nov 2003;84(11):1595-1603.



49. Duong M, Dumas JP, Buisson M, et al. Limitation of exercise capacity in nucleoside-treated HIV-infected patients with hyperlactataemia. *HIV Med.* Mar 2007;8(2):105-111.

**Anexo A – Artigo em inglês****A case-control study to test the effects of a bout of aerobic exercise followed by resistance training on antioxidant system in HIV-infected and non-HIV subjects**

Luís Fernando Deresz<sup>1,2</sup>, Andréa Sebben Kramer<sup>1</sup>, Daniela Reis Joaquim de Freitas<sup>3</sup>,  
Giovani Cunha<sup>4</sup>, Alvaro Reischak de Oliveira<sup>4</sup>, Heloisa Sporleder<sup>5</sup> Eduardo Sprinz<sup>6</sup>,  
Alexandre Ramos Lazzarotto<sup>2,8</sup>, Pedro Dall'Ago<sup>1,8,9</sup>

1 – Programa de Pós-Graduação Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares da FAMED/UFRGS; Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil;

2 – Pró-Vida ESEF-UFRGS

3 – Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFCSPA; Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil;

4 – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano, Laboratório de Pesquisa do Exercício, Escola de Educação Física, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil;

5 – Instituto de Pesquisas Biológicas/Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul

6 – Departamento de Medicina Interna HCPA/UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil ;

7 – Centro Universitário FEEVALE, Novo Hamburgo, Rio Grande do Sul, Brasil

8 – Curso de Fisioterapia do Centro Universitário La Salle – UNILASALLE, Canoas, Rio Grande do Sul, Brasil;

9 – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas e Departamento de Ciências Fisiológicas – UFCSPA, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

**Funding:** This work was supported in part by grants from CAPES and CNPq, Brasília, Brazil, and FIPE-HCPA, Porto Alegre, Brazil.

**Head title:** Oxidative stress, physical exercise, HIV

**Address for correspondence:**

Pedro Dall'Ago, PT, ScD

Departamento de Ciências Básicas da Saúde – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFSCPA,

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245/308, 90050-170, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Tel. +55 51 33038751

Fax +55 51 33038810

e-mail: [pdallago@pq.cnpq.br](mailto:pdallago@pq.cnpq.br)

**Abstract**

**Objective:** To compare oxidative stress markers and the immunologic characteristics of HIV-infected and non-HIV subjects after a bout of aerobic exercise followed by resistance exercises.

**Methods:** This is a case-control study conducted to compare HIV-infected and non-HIV subjects. The exercise protocol consisted of 20 minutes on a cycloergometer followed by 6 resistance exercises. The activity of the glutathione S-transferase (GST), catalase (CAT), total glutathione (TGSH), thiobarbituric acid–reactive substances (TBARS), T CD4+ cells, T CD8+, viral load, hemogram and leucogram were measured in three moments: before and after the aerobic exercise and after resistance exercises.

**Results:** The GST activity showed lower values during rest in the HIV group when compared with control group ( $P=0.04$ ), after the exercise session the GST values for the two groups were similar. The TGSH was significantly lower in the HIV group compared to control group in the baseline ( $P=0.013$ ), aerobic ( $P=0.003$ ) and resistance ( $P=0.003$ ). The control group presented higher TBARS values after aerobic exercise when compared to the HIV group ( $P=0.007$ ). The neutrophil count was lower in HIV group after the aerobic ( $P=0.03$ ) and resistance ( $P=0.05$ ) exercise.

**Conclusion:** HIV-infected subjects presented lower antioxidant activity at rest. Physical exercise stimulated the enzymatic activity similarly in both groups.

**Key words:** HIV, physical exercise, oxidative stress

## Introduction

Highly active antiretroviral therapy (HAART) led to a significant control of human immunodeficiency virus type 1 (HIV) infection, with a dramatic reduction in HIV related morbidity and mortality<sup>1,2</sup>. However, despite the significant improvement in clinical, viral and immunological parameters, patients submitted to HAART continue to show elevated levels of reactive oxygen species (ROS) and products of lipid peroxidation, as well as impaired antioxidant defenses, which may indicate the presence of oxidative stress<sup>3-6</sup>. Oxidative stress is a term that generally describes the cellular damage caused by ROS, and it is determined by the imbalance between pro-oxidants and antioxidants resulting in an increased formation of free radicals that leads to tissue oxidative injury<sup>7,8</sup>.

Oxidative stress can reduce immunological function, which contributes to the evolution of HIV infection and with the development of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)<sup>3,7,9</sup>. In addition, alterations in lipidic and glycolytic profiles associated with viral infection and HAART, have become an important cause of increased risk for cardiovascular disease in this population<sup>10-12</sup>.

On the other hand, exercise training has demonstrated its potential antioxidant effect in non-HIV subjects<sup>13-15</sup>. Antioxidant effects in response to exercise are characterized by the increment in the levels of glutathione (GSH), increased activity of specific enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase (GST) and soluble antioxidants, as well as the reduction in the oxidative stress markers, as the malondialdehyde (MDA) and expired ethane<sup>13-16</sup>. Such adaptations are responsible, at least in part, for the reduced incidence of ROS-associated diseases, including heart disease, type II diabetes mellitus, Alzheimer and Parkinson diseases, and some tumors in regularly physically trained people<sup>17</sup>.

The antioxidant adaptive response to exercise training can be considered a result of the cumulative effects of repeated exercise bouts. Accordingly, the acute effects of such exercise may be the first signal of this adaptation<sup>18</sup> and exercise-induced ROS could start this process<sup>17-21</sup>. Although exercise training is considered an effective strategy for improvement of body composition, cardiorespiratory and psychological parameters in HIV-infected subjects<sup>22,23</sup>, the influence of physical exercise on antioxidant capacity

and immune function in HIV-infected subjects is not completely understood. The aim of the present study was to compare the levels of oxidative stress markers and the immunological response profile in HIV-infected participants of a single session of aerobic exercise followed by one session of resistance exercise, both at moderate intensity.

## **Population & Methods**

### **Subjects**

We conducted a case-control study to compare HIV-infected and non-HIV subjects. Individuals in the HIV group were recruited at the outpatient HIV/AIDS clinic of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), while the control group (non-HIV) were healthy volunteers from the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. The groups were matched based on sex, age and physical activity level verified using the international physical activity questionnaire (IPAQ).

The inclusion criteria in the HIV group were: (1) no medical contraindications for exercise training; (2) use of HAART for at least 6 months before enrollment; (3) to be classified as low level of physical activity by IPAQ, and (4) non-use of antioxidant supplements. For the control group, the inclusion criteria were a negative HIV-1 test and the other criteria described above. Subjects with previous history of cardiovascular and neurological disease, diabetes, dyslipidemia, tobacco use, physical disability and pregnant women were excluded from the study.

To minimize the effect of circadian variations all tests were performed in the morning. The protocol was approved by the ethics in research committee of HCPA, and conducted in accordance with the declaration of Helsinki. All subjects signed a written informed consent.

### **Peak oxygen uptake test**

The peak oxygen uptake ( $VO_{2peak}$ ) was measured during an incremental test using a cycloergometer (Cybex, USA). The  $VO_{2peak}$  was defined as the highest oxygen uptake ( $VO_2$ ) achieved during the test<sup>24</sup> and the second ventilatory breakpoint was considered

the lowest workload in which the O<sub>2</sub> ventilatory equivalents (VE/VO<sub>2</sub>) showed a concomitant increase in the CO<sub>2</sub> ventilatory equivalents (VE/VCO<sub>2</sub>)<sup>25</sup>.

Exercise started at 25 Watts, then the workload was increased by 25 Watts/min and the participants kept the cadence between 60-90 rotation/min (RPM) until exhaustion. Each participant was instructed and verbally encouraged to give their maximal effort during the test. The test was interrupted when the participant requested, when the cadence was fell below 60 RPM; when the respiratory exchange rate (RER) was >1.1; or, when a VO<sub>2</sub> plateau was observed with an increasing workload<sup>26</sup>. Ventilatory and respiratory parameters were measured using indirect calorimetry (breath-by-breath, system CPX-D, MGC, USA). A cardiometer (Polar, S610, USA) was used to record heart rate (HR) during the test.

### **Allometric peak oxygen uptake**

The exponents for the allometric peak oxygen uptake (VO<sub>2</sub>allo) were calculated using the power function VO<sub>2</sub>peak: aMb, where (a) is one constant of the scale and (b) is the value of the referring exponent to the body mass. This exponent was determined through linear regression analysis after obtaining the logarithms from the equation of the power function  $\log(\text{VO}_{2\text{peak}}) = \log a + b \log M$ .

### **Resistance strength test**

Resistance strength was evaluated using the 15 maximal repetitions in peck deck, latissimus dorsi pull down, leg press, tricep press down and elbow flexion exercises. The abdominal resistance test consisted of performing the highest number of abdominal exercises in one minute<sup>27</sup>.

### **Aerobic and resistance exercise protocols**

Aerobic and resistance exercise session were performed, at least, 48 hours after the aerobic and resistance strength tests. Aerobic exercise comprised 20 minutes on a cycloergometer in the HR correspondent to 60% of the VO<sub>2</sub>peak, monitored by cardiometer (Polar, FS1, USA), while resistance exercise comprised single sets of 15 repetitions each of peck deck, latissimus dorsi pull down, leg press, tricep press

down and elbow flexion. The abdominal muscle was trained at 50% intensity of the maximum number of repetitions obtained during the abdominal test.

### **Blood Sampling**

Blood sample was collected from each participant in 4 tubes with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, 0.15%); three of them were separated for T CD4+, T CD8+, viral load (in HIV-infected) and hematologic profile analysis. The remaining tube was centrifuged at 3,000 RPM for 15 minutes. For CAT and GST analysis, 2 ml of the blood sample was separated and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . For the total glutathione (TGS) and thiobarbituric acid–reactive substances (TBARS), 300  $\mu\text{l}$  of erythrocyte concentrate was separated and diluted in 900  $\mu\text{l}$  of 5% metaphosphoric acid and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . The collection was performed at three moments: baseline (before the  $\text{VO}_2$  peak test), aerobic (immediately after aerobic exercise) and resistance (immediately after resistance exercise).

### **Analysis of the immunologic and virologic characteristics**

T CD4+ and T CD8+ lymphocytes were measured by flow cytometry, using the system *BD FACSCalibur<sup>TM</sup>* equipment. HIV-I RNA (viral load) was measured by the *VERSANT HIV-1 RNA 3.0 Assay* (bDNA) with the *Analyzer Quantiplex System 340* equipment.

### **Hematologic profile analysis**

Leukograms and hemograms were performed by flow cytometry using the Sysmex XE2100 equipment, followed by microscopic revision.

### **Oxidative stress analysis**

**Glutathione S-transferase (GST):** GST plasma activity was measured as previously described by Habig et al.<sup>28</sup>, using 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) (Sigma) as substrate. About 90  $\mu\text{l}$  of the reaction mixture (consisting of 50 mM CDNB in methanol, 5 mM glutathione in 100 mM Tris–HCl pH 8.0, and 10  $\mu\text{l}$  of plasma in 100 mM Tris–HCl pH 8.0) were tested in a 96-well plate. A buffer free enzyme was used as negative control. The concentration of the product formed was calculated using the extinction coefficient of  $9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  for S-(2,4-dinitrophenyl glutathione). Plasma protein concentration was measured using the Bradford method<sup>29</sup>. Each assay was run in



duplicate in three separate experiments. The results were expressed in  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  of protein.

**Catalase (CAT):** CAT activity assay was determined in plasma according to Aebi<sup>30</sup>. First, 100  $\mu\text{l}$  of plasma were added briefly to 100  $\mu\text{l}$  of 10 mM Tris-HCl pH 8.0 and 900  $\mu\text{l}$  of 9 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ , resulting in a final volume of 1 ml. CAT activity was determined spectrophotometrically by monitoring the disappearance of  $\text{H}_2\text{O}_2$  at 240 nm, using the  $43.6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  extinction coefficient<sup>30</sup>. Results were expressed as U/mg protein. The assays were conducted in three independent experiments, all of them performed in duplicate.

**Lipid peroxidation:** TBARS assay was used as an index of lipid peroxidation in erythrocytes, based on the formation of lipid peroxidation products during an acid-heating reaction as previously described by Buege<sup>31</sup>. The prepared erythrocytes were briefly mixed with 30% trichloroacetic acid (v/v), 0,01 mM butylated hydroxytoluene (BHT), and 0.73% thiobarbituric acid (v/v); then the mixture was heated in a boiling water bath for 15 min. TBARS were determined by absorbance at 535 nm and expressed as MDA equivalents (picomol/mg protein). The assays were conducted in two independent experiments, both performed in duplicate.

**Total glutathione (TGSH):** TGSH content was measured in erythrocyte concentrate using the *Glutathione Assay* kit (Sigma, USA), according to the manufacturer's recommendations. The assays were carried out in two independent experiments, both performed in duplicate. The results were expressed in nmoles GSH/ml of sample.

### **Sample size & Statistical analysis**

It was estimated that 14 patients in each group would be required to detect a difference of 20% in TGSH levels in response to exercise, with 90% power using a 5% significance level (two-sided). Data was analyzed using descriptive statistical techniques (measures of central tendency and dispersion). Intra-group analysis was performed using ANOVA for repeated measures or the Friedman test; for analysis between groups, paired *t*-test or Wilcoxon signed-rank test were used following the criteria of normality evaluated by Kolmogorov-Smirnov test. Post-hoc Tukey was applied for multiple comparisons. Spearman rank-order correlations was used to

examine the linear association between T CD4 cells and TGSH levels. Statistical significance was defined as  $P \leq 0.05$ . The *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 13) software was used for statistical analysis.

## Results

The study population included 14 case patients (HIV positive individuals) and 14 controls (HIV negative). All of them completed a general health questionnaire in which they were asked about the use of antioxidant supplements and were classified as low level physical activity by IPAQ. The participants in the HIV group could not use any medications other than those included in HAART (combinations described in Table 1), while the control group did not use medication. Baseline characteristics are shown in table 1.

### Peak oxygen uptake

The control group showed higher values for the absolute ( $2167.5 \pm 597.7$  vs.  $1673 \pm 349.2$  ml.min<sup>-1</sup>;  $P=0.007$ ) and allometric ( $86.4 \pm 14.9$  vs.  $75.8 \pm 12.6$  ml.kg<sup>-0.75</sup>.min<sup>-1</sup>;  $P=0.04$ ) VO<sub>2</sub> when compared with the HIV group. Moreover, the values for the absolute ( $1554.8 \pm 528.4$  vs.  $1143.9 \pm 294.5$  ml.min<sup>-1</sup>;  $P=0.015$ ) and allometric ( $61.4 \pm 13.2$  vs.  $51.6 \pm 9.19$  ml.kg<sup>-0.75</sup>.min<sup>-1</sup>;  $P=0.03$ ) second ventilatory breakpoint were higher in the control group.

### Immunologic and virologic characteristics and hematologic profile

In an intra-group analysis, the response to exercise did not differ significantly in terms of the values for T CD4+, T CD8+ cells and viral load. However, in an inter-group analysis, the controls showed significantly higher counts in the T CD4+ cells at the 3 analyzed moments ( $P=0.004$  for baseline,  $P=0.002$  for aerobic and  $P=0.001$  for resistance). For the T CD8+ cells, the HIV group presented significantly higher values in the baseline ( $P=0.02$ ) and aerobic moments ( $P=0.03$ ).

Regarding the neutrophil count, when the 3 moments were compared, there was no significant change after exercise in either group. However, in the analysis between groups the values were higher in the control group after the aerobic ( $P=0.03$ ) and

resistance exercise ( $P=0.05$ ). In the lymphocytes, there were no significant differences in the intra and inter-group analyses. These values are shown in detail in table 2.

### **Glutathione S-transferase**

In the HIV group, the GST activity increased after resistance exercise when compared with the baseline and aerobic moments ( $P=0.03$  and  $P=0.02$  respectively). In the control group, while GST activity diminished after the aerobic exercise ( $P=0.02$ ), it returned to baseline values after the resistance exercise. Comparing the values between groups, HIV group showed values lower at the baseline ( $P=0.04$ ), however after exercise there was no difference (Figure 1A).

### **Catalase**

There was no difference in baseline catalase activity between the HIV and control groups. Similarly, exercise did not induce changes in catalase activity in either group (Figure 1B).

### **Lipid peroxidation**

No difference was found in TBARS values in response to the exercise in the HIV group. In the control group, values were higher in relation to the baseline after aerobic exercise ( $P=0.005$ ). When the two groups were compared, the control group showed higher TBARS values after aerobic exercise ( $P=0.007$ ) (Figure 2A).

### **Total glutathione**

In intra-group analysis, exercises did not produce significant alterations in the levels of TGSH. However, inter-group comparison showed that TGSH was lower in the HIV group at all moments ( $P=0.01$ ,  $P=0.003$  and  $P=0.003$  for baseline, aerobic and resistance respectively) (Figure 2B).

### **Association between T CD4 cells and total glutathione**

Spearman rank correlation revealed that there was a relationship between T CD4+ cells and TGSH ( $r = 0.62$ ,  $P=0.002$ ).

## Discussion

The purpose of the present study was to compare the effect of one single session of aerobic exercise followed by one session of resistance exercise on the levels of oxidative stress markers in HAART-using HIV-infected subjects, when compared with non-HIV subjects. Even with the consistent results indicating adaptation of antioxidant capacity to exercise training in previous studies<sup>13-15</sup>, this is the first study to investigate the effect of physical exercise on the redox state and immunological profile in HIV-infected subjects.

The findings of the present study show that, although the GST activity was reduced at baseline in the HIV group, it increased after the exercise session, it's increased only in HIV group become similar to the control group. In addition, the exercise protocol induced an increase in TBARS after the aerobic exercise in the control group. On the other hand, the TGS content was lower in the HIV-infected subjects.

When compared GST activity between HIV-infected and non-HIV subjects at baseline, lower values were found in the HIV group, however, this difference disappeared after the resistance exercise. An increase in GST activity after resistance exercise was also reported in human muscle biopsies<sup>32</sup>, as well as in response to exercise training<sup>33</sup>. These authors suggest that the increment in GST activity is an attempt to avoid the ROS production induced by exercise. There is no clear explanation for the reduction of this enzyme activity after aerobic exercise in control group. However, the lower activity of antioxidant enzymes in response to exercise was also observed by others<sup>34,35</sup>. As the GST catalyzes the conjugation of GSH with xenobiotics and free radicals, so reducing their toxicity<sup>36</sup>, it is possible that the GSH consumed, during the exercise, to regenerate the main antioxidants, ascorbic acid and  $\alpha$ -tocopherol, or neutralize the superoxide anion and singlet oxygen<sup>37</sup> may restrict its bioavailability and limit GST activity.

On the other hand, CAT activity was not affected by exercise in the groups evaluated. This result is in agreement with the data demonstrated by other authors in other situations<sup>35,38</sup>. The maintenance of CAT activity could be explained by its lower affinity to hydrogen peroxide than glutathione peroxidase, as previously shown<sup>39</sup>.

The reduced levels of TGS<sub>H</sub> in HIV-infected subjects was confirmed, indicating lower antioxidant defense levels in this population<sup>40</sup>. Moreover, in our study we were able to show a positive correlation between the number of the T CD4<sup>+</sup> cells and TGS<sub>H</sub>, ratifying, for this way, an association between the antioxidant capacity and the immune function<sup>3,6</sup>. Nevertheless, in the present study, even though the amount of TGS<sub>H</sub> was lower in the HIV subjects when compared to the control group, it was higher than that found in another study with HIV-infected subjects<sup>40</sup>. This difference might have been associated with the phase of viral response, as well with the methodological approach used to quantify TGS<sub>H</sub><sup>41</sup>.

The response of oxidative stress to exercise is highly complex and depends on a number of factors including the activity of enzymes and antioxidant substances, the time and intensity that the exercise is performed, and the nutritional status and physical condition of the subjects<sup>38,39,42</sup>. Lipid peroxidation is one of the most widely used means of verifying the damage induced by oxidative stress. In the present study, the TBARS levels were used to quantify this variable and verify increases in this marker after aerobic exercise in the control group. As mentioned above, the imbalance between pro-oxidant and antioxidant mechanisms determines the level of oxidative stress. The amounts of neutrophil after the aerobic exercise were higher in the control group than in the HIV group. Neutrophils could release ROS<sup>43</sup>, and along with other pro-oxidative mechanisms induced by exercise<sup>39,42</sup> might be linked to the reduction of the GST activity observed in our study, which can explain the increase in TBARS found only in the control group. The increment in the GST activity, the exposure to longer periods of exercise and the difference between the energy metabolism in the aerobic and resisted exercises<sup>34,42</sup>, apparently, were enough to minimize the oxidative damage after the resistance exercise.

Exercise sessions did not significantly modify the number of immunological cells in the studied groups. As expected, the control group showed a higher T CD4<sup>+</sup> cell content at the three moments, while the inverse occurred with T CD8<sup>+</sup> cells, except after the aerobic exercise. The inversion in the values of T CD4<sup>+</sup> and T CD8<sup>+</sup> cells in HIV-infected subjects is well described in the literature<sup>44</sup>. Regarding neutrophils, a lower cell count was observed after the aerobic and resistance exercise in HIV-infected subjects when compared with the control group. The higher neutrophil values observed

in the control group could be explained by HAART use<sup>45, 46</sup>, as all individuals in the HIV group were using zidovudine, a drug known to be associated to myelotoxicity.

Concerning functional capacity, the results of the present report corroborate the current information in the literature, which shows that HIV-infected subjects have limited functional capacity when compared to non-HIV-infected subjects with similar ages and levels of physical activity<sup>47-49</sup>.

The relatively small sample size limits the generalization of our findings. Moreover, a long term- follow-up is necessary to evaluate whether the improvement in antioxidant capacity remains after a bout of exercise. Furthermore, the exact nature of the antioxidant response in non HAART treated HIV subjects remains unclear. Lastly, the use of more specific techniques to evaluate oxidative stress, as well as other biomarkers may shed more light on the results of present study.

To summarize, the main results of our study indicates that: 1) exercise session increases GST activity similarly in both groups; 2) CAT activity in response to exercise was similar in both groups; 3) the increase in TBARS after aerobic exercise could be associated to the higher neutrophil count in the control group; and, 4) based on TGS values, it is possible to confirm that HIV-infected subjects presented with a limited antioxidant capacity when compared with the control group.

In conclusion, the results of our study indicate a similar enzymatic response to physical exercise in both HIV-infected and non-HIV subjects. This suggests that physical exercise generates similar levels of oxidative stress and stimulates an antioxidant mechanism in both groups. Therefore, the use of exercise training as an antioxidant strategy might be considered in HIV-infected individuals.

### **Acknowledgments**

The authors thank the Weinmann laboratory and the IPB-LACEN RS for the hematologic, immunological and virological analysis. We are very grateful to subjects who participated in this study.

Table 1 – Characteristics of the participants of the study

	HIV group	Control group	P
n (m/w)	14(7/7)	14(7/7)	
Age (yr)	39.2 ± 8.7	36 ± 10.6	0.06
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.1 ± 4.6	26.4 ± 4.3	0.1
Viral load (copies/ml)			
Undetectable	7	-	
>50 and <500	6	-	
=19.690	1	-	
Antiretroviral regimen			
PI+r	5	-	
NNRTI	6	-	
ATZ	3	-	
Time of HAART (yr)	5.7 ± 3.9	-	

Data are presented as mean ± SD; BMI: body mass index, PI+r: protease inhibitors NNRTI: non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors and ATZ: atazanavir. Results were compared using the paired *t* test.

Table 2: Values of the immunological variables

Cell/ $\mu$ l	HIV group			Control group		
	baseline	aerobic	resistance	baseline	aerobic	resistance
T CD4+	417 (116-1132)	428 (70-811)	378 (70-981)	984 (594-2145)*	968 (553-1587)†	974 (643-1411)‡
T CD8+	980 (379-1829)	1106 (360-1101)	1210 (345-2683)	576 (260-1223)§	665 (316-2003)	661 (316-1792)
Lymphocytes	1960 (1309-3037)	2050 (1420-3231)	2043 (1351-3883)	2137 (1420-3856)	2191(1729-3820)	2223 (1508-3784)
Neutrophils	3237 (1901-4270)	3285 (1610-5476)	3511 (1531-5977)	3212 (2328-4174)	3476 (2184-9236)¶	3563 (2422-9214)**

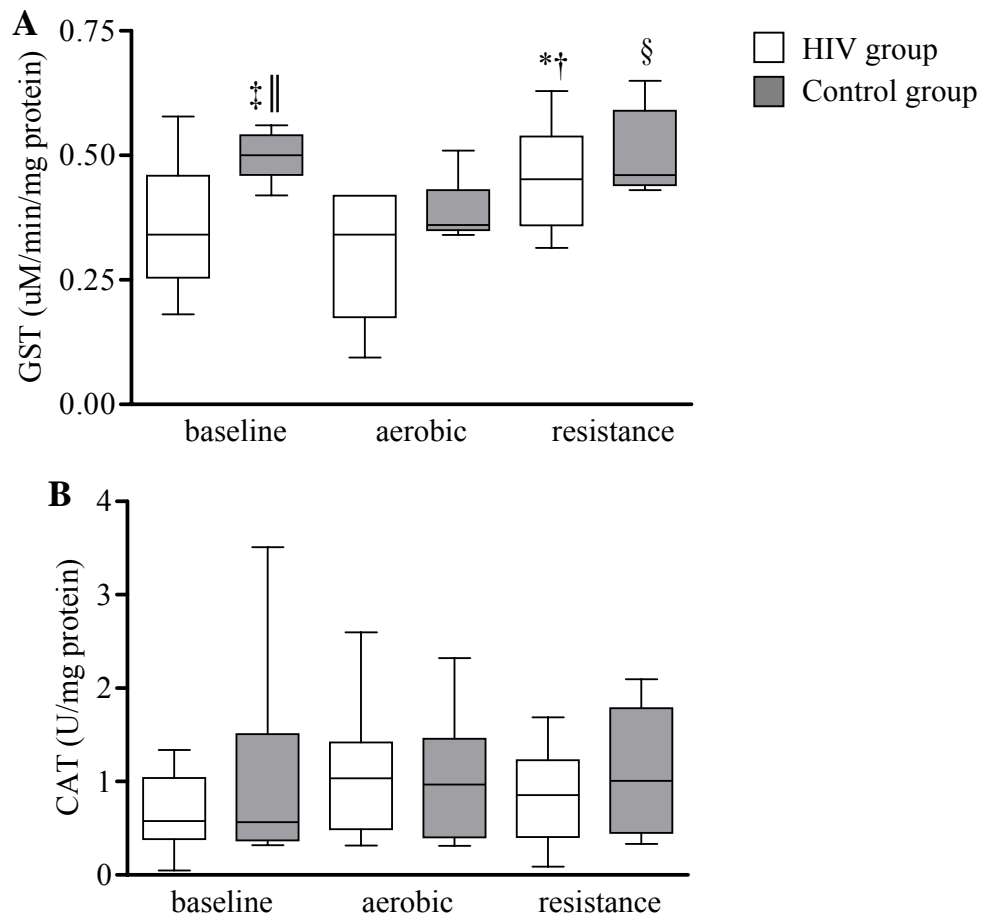
Data are presented as median range \*P=0.004 HIV vs. controls in baseline; †P=0.002 HIV vs. controls in aerobic; ‡P=0.001 HIV vs. controls in resistance; §P=0.02 HIV vs. controls in baseline, ||P=0.03 HIV vs. controls in resistance; ¶P=0.03 HIV vs. controls in aerobic; \*\*P=0.05 HIV vs. controls in resistance. In intra-group analysis was utilized the Friedman test and the Wilcoxon test was applied to locate the source of significant differences. In inter-group analysis the Wilcoxon test was utilized.

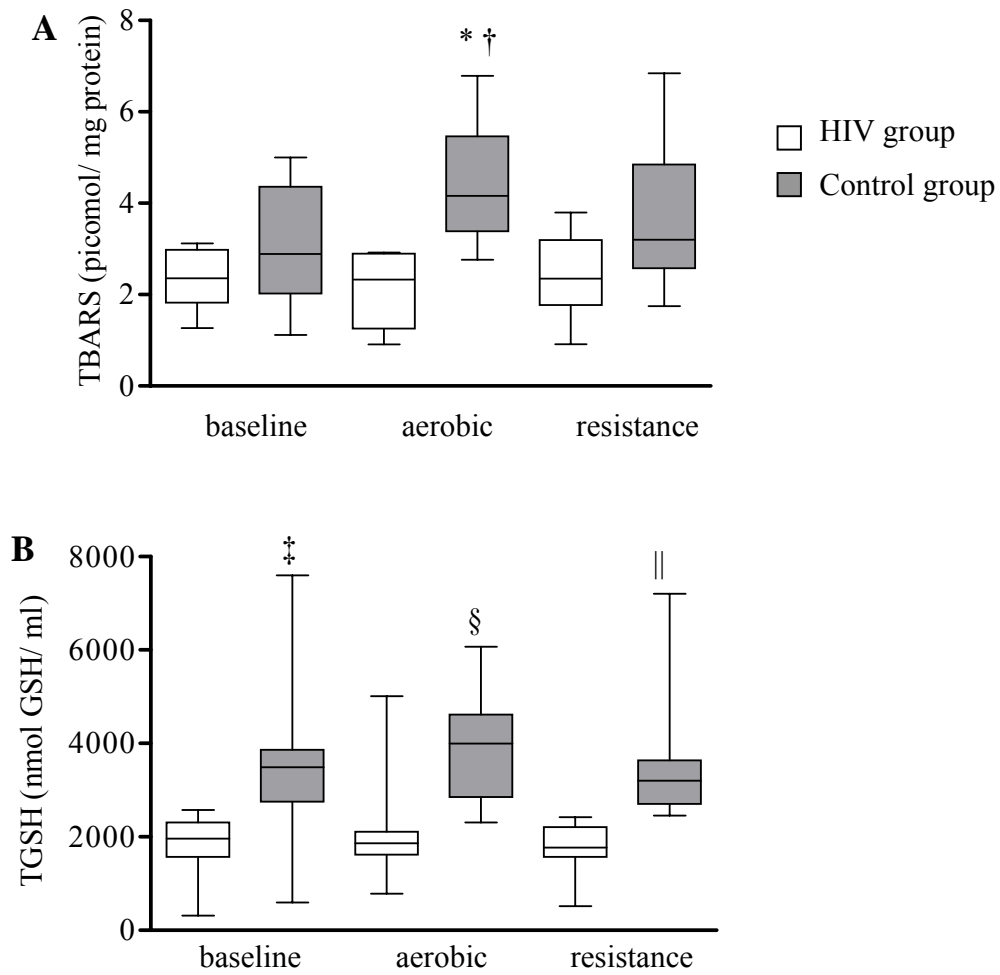


### Figure legends

**Figure 1.** A, Glutathione S-transferase (GST) and B, catalase (CAT) activity in the HIV and control groups. Data are presented as median range. Comparison in HIV group: \*P=0.03 resistance vs. baseline and †P=0.02 resistance vs. aerobic; Comparison in control group: ‡P=0.02 baseline vs. aerobic and §P=0.02 resistance vs. aerobic; Comparison between groups in baseline: ||P=0.04. In intra-group analysis was utilized the Friedman test and the Wilcoxon test was applied to locate the source of significant differences. In inter-group analysis the Wilcoxon test was utilized

**Figure 2.** A, lipoperoxidation measured by thiobarbituric acid–reactive substances (TBARS) and B, total glutathione (TGSH) in HIV and control groups in moments baseline, aerobic and resistance. Data are presented as median range. \*P=0.005 aerobic vs. baseline in control group; †P=0.007 HIV vs. control in aerobic; ‡P=0.01, §P=0.003 and ||P=0.003 for HIV vs. control in moments baseline, aerobic and resistance respectively. In intra-group analysis was utilized the Friedman test and the Wilcoxon test was applied to locate the source of significant differences. In inter-group analysis the Wilcoxon test was utilized.

**Figure 1**

**Figure 2**

## References

1. Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. Mar 26 1998;338(13):853-860.
2. Borrell C, Rodriguez-Sanz M, Pasarín MI, et al. AIDS mortality before and after the introduction of highly active antiretroviral therapy: does it vary with socioeconomic group in a country with a National Health System? *Eur J Public Health*. Dec 2006;16(6):601-608.
3. Gil L, Martinez G, Gonzalez I, et al. Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients. *Pharmacol Res*. Mar 2003;47(3):217-224.
4. Aukrust P, Muller F, Svardal AM, Ueland T, Berge RK, Froland SS. Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidant levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy--potential immunomodulatory effects of antioxidants. *J Infect Dis*. Jul 15 2003;188(2):232-238.
5. Allard JP, Aghdassi E, Chau J, et al. Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in HIV-infected subjects. *AIDS*. Sep 10 1998;12(13):1653-1659.
6. Walmsley SL, Winn LM, Harrison ML, Uetrecht JP, Wells PG. Oxidative stress and thiol depletion in plasma and peripheral blood lymphocytes from HIV-infected patients: toxicological and pathological implications. *AIDS*. Nov 15 1997;11(14):1689-1697.
7. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. Jan 2002;82(1):47-95.
8. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect*. Dec 1994;102 Suppl 10:5-12.
9. Stehbens WE. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. *Exp Mol Pathol*. Oct 2004;77(2):121-132.
10. Friis-Moller N, Reiss P, Sabin CA, et al. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. Apr 26 2007;356(17):1723-1735.
11. Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol*. Mar 2008;23(3):381-390.

12. Masia M, Padilla S, Bernal E, et al. Influence of antiretroviral therapy on oxidative stress and cardiovascular risk: a prospective cross-sectional study in HIV-infected patients. *Clin Ther*. Jul 2007;29(7):1448-1455.
13. Linke A, Adams V, Schulze PC, et al. Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure: increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. *Circulation*. Apr 12 2005;111(14):1763-1770.
14. Nojima H, Watanabe H, Yamane K, et al. Effect of aerobic exercise training on oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. Feb 2008;57(2):170-176.
15. Elokda AS, Nielsen DH. Effects of exercise training on the glutathione antioxidant system. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. Oct 2007;14(5):630-637.
16. Brooks SV, Vasilaki A, Larkin LM, McArdle A, Jackson MJ. Repeated bouts of aerobic exercise lead to reductions in skeletal muscle free radical generation and nuclear factor kappaB activation. *J Physiol*. Aug 15 2008;586(16):3979-3990.
17. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med*. Jan 15 2008;44(2):153-159.
18. Hollander J, Fiebig R, Gore M, Ookawara T, Ohno H, Ji LL. Superoxide dismutase gene expression is activated by a single bout of exercise in rat skeletal muscle. *Pflugers Arch*. Jun 2001;442(3):426-434.
19. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Vina J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med*. Jan 15 2008;44(2):126-131.
20. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Ann N Y Acad Sci*. May 2006;1067:425-435.
21. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology*. 2005;6(1):71-75.
22. O'Brien K, Tynan AM, Nixon S, Glazier RH. Effects of progressive resistive exercise in adults living with HIV/AIDS: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *AIDS Care*. Jul 2008;20(6):631-653.
23. O'Brien K, Nixon S, Tynan AM, Glazier RH. Effectiveness of aerobic exercise in adults living with HIV/AIDS: systematic review. *Med Sci Sports Exerc*. Oct 2004;36(10):1659-1666.

24. Hebestreit H, Staschen B, Hebestreit A. Ventilatory threshold: a useful method to determine aerobic fitness in children? *Med Sci Sports Exerc.* Nov 2000;32(11):1964-1969.
25. Wasserman K, McIlroy MB. Detecting the Threshold of Anaerobic Metabolism in Cardiac Patients During Exercise. *Am J Cardiol.* Dec 1964;14:844-852.
26. Howley ET, Bassett DR, Jr., Welch HG. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc.* Sep 1995;27(9):1292-1301.
27. Badillo JJG, Ayestarán EG. *Fundamentos do treinamento de força: aplicação ao alto rendimento desportivo.* 2 ed. Porto Alegre: Artemed; 2001.
28. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* Nov 25 1974;249(22):7130-7139.
29. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* May 7 1976;72:248-254.
30. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-126.
31. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-310.
32. Rietjens SJ, Beelen M, Koopman R, LJ VANL, Bast A, Haenen GR. A single session of resistance exercise induces oxidative damage in untrained men. *Med Sci Sports Exerc.* Dec 2007;39(12):2145-2151.
33. Souza-Rabbo MP, Silva LF, Auzani JA, Picoral M, Khaper N, Bello-Klein A. Effects of a chronic exercise training protocol on oxidative stress and right ventricular hypertrophy in monocrotaline-treated rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* Aug 2008;35(8):944-948.
34. Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol.* Mar 2003;89(1):14-20.
35. Gul M, Demircan B, Taysi S, et al. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* Feb 2006;143(2):239-245.
36. Wilce MC, Parker MW. Structure and function of glutathione S-transferases. *Biochim Biophys Acta.* Mar 16 1994;1205(1):1-18.

37. Ji LL. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. *Exerc Sport Sci Rev.* 1995;23:135-166.
38. Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Bello-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. *Can J Appl Physiol.* Dec 2005;30(6):723-734.
39. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* Jul 15 2003;189(1-2):41-54.
40. Jariwalla RJ, Lalezari J, Cenko D, et al. Restoration of blood total glutathione status and lymphocyte function following alpha-lipoic acid supplementation in patients with HIV infection. *J Altern Complement Med.* Mar 2008;14(2):139-146.
41. Garaci E, Palamara AT, Ciriolo MR, et al. Intracellular GSH content and HIV replication in human macrophages. *J Leukoc Biol.* Jul 1997;62(1):54-59.
42. Niess AM, Simon P. Response and adaptation of skeletal muscle to exercise - the role of reactive oxygen species. *Frontiers in Bioscience.* 2007;12:4826-4838.
43. Peake J, Suzuki K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol Rev.* 2004;10:129-141.
44. Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS. HIV Medicine-2006; 2006.
45. Richman DD, Fischl MA, Grieco MH, et al. The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med.* Jul 23 1987;317(4):192-197.
46. Levine AM, Karim R, Mack W, et al. Neutropenia in human immunodeficiency virus infection: data from the women's interagency HIV study. *Arch Intern Med.* Feb 27 2006;166(4):405-410.
47. Cade WT, Peralta L, Keyser RE. Aerobic exercise dysfunction in human immunodeficiency virus: a potential link to physical disability. *Phys Ther.* Jul 2004;84(7):655-664.
48. Cade WT, Fantry LE, Nabar SR, Keyser RE. Decreased peak arteriovenous oxygen difference during treadmill exercise testing in individuals infected with the human immunodeficiency virus. *Arch Phys Med Rehabil.* Nov 2003;84(11):1595-1603.
49. Duong M, Dumas JP, Buisson M, et al. Limitation of exercise capacity in nucleoside-treated HIV-infected patients with hyperlactataemia. *HIV Med.* Mar 2007;8(2):105-111.

**Anexo B – Termo de consentimento livre e esclarecido - Casos**

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CASOS

Prezado (a) Senhor (a):

Meu nome é Luís Fernando Deresz, sou educador físico e gostaria de lhe convidar para participar da pesquisa que estou realizando sobre exercício físico. O objetivo dela é comparar o perfil da resposta imunológica e o estresse oxidativo e em indivíduos HIV positivos e negativos participantes de uma sessão de exercícios aeróbico (30 minutos na bicicleta) e resistência muscular localizada (musculação), sendo realizado no Laboratório de Pesquisa do Exercício da Escola de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O estresse oxidativo é decorrente de um desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e os mecanismos pró-oxidantes, tendendo para o último, e pode estar relacionado a inúmeras doenças como aterosclerose, câncer, doença de Alzheimer e outras doenças crônicas, além de fazer parte do processo de envelhecimento e ser capaz de diminuir a capacidade de defesa do organismo. Este estresse pode ser originado por vários fatores, entre eles o estresse físico, incluindo o exercício físico e o estresse infeccioso, como as doenças virais.

Por favor, leia com atenção as informações descritas abaixo:

- 1** A sua participação na pesquisa iniciará após a leitura, o esclarecimento de possíveis dúvidas e do seu consentimento livre e esclarecido por escrito. A assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será em duas vias, permanecendo uma delas com o participante.
- 2** O participante será informado (a) sobre os procedimentos e resultados da participação na pesquisa e receberá esclarecimento sobre as dúvidas que possam surgir dela.
- 3** As informações coletadas na pesquisa não serão vinculadas a identidade do participante, ou seja, permanecerão no anonimato. Apenas o pesquisador Luís Fernando ou alguém autorizado por ele terá acesso aos dados de identificação.



**4** Durante a pesquisa os participantes receberão acompanhamento do pesquisador ou de alguém da sua equipe na realização do programa de exercícios, avaliações e assistência no caso de alguma lesão decorrente da participação na pesquisa. O médico do serviço de saúde onde o paciente é atendido será comunicado sobre os resultados das avaliações na pesquisa.

**5** A participação na pesquisa envolverá as seguintes fases: entrevista, avaliação e exercício na bicicleta e de musculação e coletas de sangue,.

**6** A entrevista abordará aspectos relacionados às doenças e medicação em geral, uso de álcool e fumo, exercício físico e dor no meu corpo, sendo realizada num local isolado e privativo e não ocorrendo a sua gravação e ou filmagem.

**7** Para a avaliação na bicicleta o participante será comunicado com antecedência de, no mínimo 72 horas, sobre as condições prévias necessárias para participar dela: não ter ingerido comida, álcool, cafeína ou ter fumado três horas antes do teste, estar descansado e com roupas apropriadas para o teste e com a presença de um acompanhante.

Após a adequação às condições citadas anteriormente, serão coletados os dados do peso, altura e pressão arterial e serão dadas orientações na realização de uma sessão de exercícios de alongamentos. Ao término destes exercícios, será ajustado ao tronco e cabeça, um conjunto composto por sensores de frequência cardíaca, um bucal e uma touca. Este conjunto estará conectado ao aparelho que medirá o oxigênio e o gás carbônico produzidos pela respiração.

Com o ajuste finalizado, ocorrerá a adaptação à bicicleta na velocidade mínima, seguido de um repouso na bicicleta durante 3 minutos em repouso na bicicleta. Após o repouso, o participante irá pedalar numa intensidade moderada, aumentando-a de acordo com a capacidade física, até o tempo máximo de 12 minutos, ocorrendo então, a diminuição gradual desta intensidade. Ao finalizar o teste, novamente, será realizada uma sessão de alongamentos. A avaliação na bicicleta terá o acompanhamento e assistência de um médico. Depois de encerrada a avaliação cardiorrespiratória os participantes se deslocarão até a sala de musculação da ESEF-UFRGS, onde farão o teste de carga para a musculação. Em um primeiro momento haverá a

demonstração do exercício por um professor. Em seguida o participante realizará o exercício com uma carga que permita a execução correta, tendo como número máximo de 15 repetições. Os exercícios de musculação envolverão a musculatura de tronco, pernas e braços. Específico para o teste de força abdominal, serão realizadas o máximo de repetições durante um (1) minuto. Ao término desta sessão, haverá nova série de alongamentos.

**8** As coletas de sangue (26 mililitros) acontecerão no dia da sessão de exercícios, que será marcada no dia da avaliação e ocorrerá em três momentos: antes dos exercícios, depois do exercício na bicicleta (30 minutos) e mais uma depois do exercício de musculação, todas dentro do período de uma (1) hora.

Todos os procedimentos realizados para coletar o sangue serão executados por um profissional da área da saúde do Instituto de Pesquisas Biológicas - Laboratório Central de Saúde Pública do RS, com formação técnica para esses procedimentos e, de acordo, com as normas de segurança vigentes. No início das coletas de sangue ocorrerá desconforto devido à picada da agulha da seringa. Finalizada a coleta, o sangue será separado em tubos para a análise no Instituto de Pesquisas Biológicas- Laboratório Central de Saúde Pública do RS, laboratório particular e Laboratório de Fisiologia Celular da UFRGS. Todos os testes aplicados serão custeados por parceria, não gerando custos aos HCPA e aos pesquisadores.

**9** No transcorrer ou após os exercícios poderão ocorrer alguns desconfortos como cansaço, cãibra e dores nos músculos que, tornar-se-ão menos frequentes e intensos, à medida que se exercite. Existe o risco de ocorrer uma parada cardíaca súbita em pessoas se exercitando, conforme a literatura é de 1/565000. No caso de ocorrer alguma lesão, será providenciado tratamento adequado.

**10** A participação na pesquisa será voluntária. Concordando ou recusando em participar, não serão obtidas vantagens ou desvantagens no atendimento e tratamento no serviço de saúde no qual os pacientes são atendidos. Ninguém será obrigado a responder a todas as perguntas e realizar todas as avaliações e exercícios, podendo interromper ou cancelá-los a qualquer momento. A participação em todos os procedimentos da pesquisa não implicará no pagamento de qualquer taxa.

**11** Necessitando quaisquer esclarecimentos sobre a pesquisa ou querendo cancelar a participação nela, o participante entrará em contato direto com o pesquisador Luís Fernando ou pelo número do seu telefone celular: (51) 9331-3575.

Data:

Nome do participante:

Assinatura do participante:

Contato (telefone):

Nome do pesquisador: Luís Fernando Deresz

Nome do pesquisador responsável: Pedro Dall'Ago (51-9961-7331)

Assinatura do pesquisador responsável:

**Anexo C – Termo de consentimento livre e esclarecido – Controles****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – CONTROLES**

Prezado (a) Senhor (a):

Meu nome é Luís Fernando Deresz, sou educador físico e gostaria de lhe convidar para participar da pesquisa que estou realizando sobre exercício físico. O objetivo dela é comparar o perfil da resposta imunológica e o estresse oxidativo e em indivíduos HIV positivos e negativos participantes de uma sessão de exercícios aeróbio (20 minutos na bicicleta) e resistência muscular localizada (musculação), sendo realizado no Laboratório de Pesquisa do Exercício da Escola de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O estresse oxidativo é decorrente de um desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e os mecanismos pró-oxidantes, tendendo para o último, e pode estar relacionado a inúmeras doenças como aterosclerose, câncer, doença de Alzheimer e outras doenças crônicas, além de fazer parte do processo de envelhecimento e ser capaz de diminuir a capacidade de defesa do organismo. Este estresse pode ser originado por vários fatores, entre eles o estresse físico, incluindo o exercício físico e o estresse infeccioso, como as doenças virais.

Por favor, leia com atenção as informações descritas abaixo:

- 1** A participação na pesquisa iniciará após a leitura, o esclarecimento de possíveis dúvidas e do seu consentimento livre e esclarecido por escrito. A assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será em duas vias, permanecendo uma delas com o participante.
  
- 2** O participante será informado (a) sobre os procedimentos e resultados da sua colaboração na pesquisa e receberá esclarecimento sobre as dúvidas que possam surgir dela.
  
- 3** As informações coletadas na pesquisa não serão vinculadas a sua identidade, ou seja, permanecerão no anonimato. Apenas o pesquisador Luís Fernando ou alguém autorizado por ele terá acesso aos dados de identificação.

**4** Durante a pesquisa os participantes receberão acompanhamento do pesquisador ou de alguém da sua equipe na realização do programa de exercícios, avaliações e assistência no caso de alguma lesão decorrente da participação na pesquisa.

**5** A participação na pesquisa envolverá as seguintes fases: entrevista, avaliação e exercício na bicicleta e de musculação e coletas de sangue,.

**6** A entrevista abordará aspectos relacionados às doenças e medicação em geral, uso de álcool e fumo, exercício físico e dores no corpo, sendo realizada num local isolado e privativo e não ocorrendo a sua gravação e ou filmagem.

**7** Para a avaliação na bicicleta o participante será comunicado com antecedência de, no mínimo 72 horas, sobre as condições prévias necessárias para participar dela: não ter ingerido comida, álcool, cafeína, estar descansado e com roupas apropriadas para o teste e com a presença de um acompanhante.

Após a adequação às condições citadas anteriormente, serão coletados os dados do peso, altura e pressão arterial e serão dadas orientações na realização de uma sessão de exercícios de alongamentos. Ao término destes exercícios, será ajustado ao tronco e cabeça, um conjunto composto por sensores de frequência cardíaca, um bucal e uma touca. Este conjunto estará conectado ao aparelho que medirá o oxigênio e o gás carbônico produzidos pela respiração.

Com o ajuste finalizado, ocorrerá a adaptação à bicicleta na velocidade mínima, seguido de um repouso na bicicleta durante 3 minutos em repouso na bicicleta. Após o repouso, iniciar-se-a o exercício em uma intensidade moderada, aumentando-a de acordo com a capacidade física, até o tempo máximo de 12 minutos, ocorrendo então, a diminuição gradual desta intensidade. Ao finalizar o teste, novamente, será realizada uma sessão de alongamentos. A avaliação na bicicleta terá o acompanhamento e assistência de um médico. Depois de encerrada a avaliação cardiorrespiratória haverá deslocamento até a sala de musculação da ESEF-UFRGS, onde será realizado o teste de carga para a musculação. Em um primeiro momento haverá a demonstração do exercício por um professor. Em seguida, o participante realizará o exercício com uma carga

que permita a execução correta, tendo como número máximo de 15 repetições. Os exercícios de musculação envolverão a musculatura de tronco, pernas e braços. Específico para o teste de força abdominal, serão realizadas o máximo de repetições durante um (1) minuto. Ao término desta sessão, haverá nova série de alongamentos.

**8** As coletas de sangue (26 mililitros) acontecerão no dia da sessão de exercícios, que será marcada no dia da avaliação e ocorrerá em três momentos: antes dos exercícios, depois do exercício na bicicleta (30 minutos) e mais uma depois do exercício de musculação, todas dentro do período de uma (1) hora.

Todos os procedimentos realizados para coletar o sangue serão executados por um profissional da área da saúde do Instituto de Pesquisas Biológicas - Laboratório Central de Saúde Pública do RS, com formação técnica para esses procedimentos e, de acordo, com as normas de segurança vigentes. No início das coletas de sangue ocorrerá desconforto devido à picada da agulha da seringa. Finalizada a coleta, o sangue será separado em tubos para a análise no Instituto de Pesquisas Biológicas- Laboratório Central de Saúde Pública do RS, laboratório particular e Laboratório de Fisiologia Celular da UFRGS. Todos os testes aplicados serão custeados por parceria, não gerando custos aos HCPA e aos pesquisadores.

**9** Será realizado um teste anti-HIV com o participante. No caso do resultado ser positivo, ele será encaminhado para atendimento no ambulatório de HIV/AIDS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

**10** No transcorrer ou após os exercícios poderão ocorrer alguns desconfortos como cansaço, cãibra e dores nos músculos que, tornar-se-ão menos frequentes e intensos, à medida que o exercício se torne regular. Existe o risco de ocorrer uma parada cardíaca súbita em pessoas se exercitando, conforme a literatura é de 1/565000. No caso de ocorrer alguma lesão, será providenciado tratamento adequado.

**11** A participação na pesquisa será voluntária. Ninguém será obrigado a responder a todas as perguntas e realizar todas as avaliações e exercícios, podendo interromper ou cancelá-los a

qualquer momento. A participação em todos os procedimentos da pesquisa não implicará no pagamento de qualquer taxa.

**12** Necessitando quaisquer esclarecimentos sobre a pesquisa ou querendo cancelar a participação nela, o participante entrará em contato direto com o pesquisador Luís Fernando ou pelo número do seu telefone celular: (51) 9331-3575

Data:

Nome do participante:

Assinatura do participante:

Contato (telefone):

Nome do pesquisador: Luís Fernando Deresz

Nome do pesquisador responsável: Pedro Dall'Ago (51-9961-7331)

Assinatura do pesquisador responsável: