



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMAS DE MESTRADO E DOUTORADO
LINHA DE PESQUISA: ATIVIDADE FÍSICA E SAÚDE**

MAXIMILIANO ISOPPO SCHAUN

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE MARCADORES DE
ESTRESSE OXIDATIVO E FUNÇÃO ENDOTELIAL EM
INDIVÍDUOS SEDENTÁRIOS DE MEIA IDADE DO SEXO
MASCULINO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Orientador: Professor Dr. Alvaro Reischak de Oliveira

Porto Alegre, Setembro de 2009

MAXIMILIANO ISOPPO SCHAUN

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE MARCADORES DE
ESTRESSE OXIDATIVO E FUNÇÃO ENDOTELIAL EM
INDIVÍDUOS SEDENTÁRIOS DE MEIA IDADE DO SEXO
MASCULINO**

Documento apresentado como
requisito parcial para a obtenção de grau
de Mestre em Ciências do Movimento
Humano Universidade Federal do Rio
Grande do Sul. Programa de Pós-
graduação em Ciências do Movimento
Humano

Orientador: Professor Dr. Alvaro Reischak de Oliveira - UFRGS

Porto Alegre, Setembro de 2009

CATALOGAÇÃO NA FONTE

S313e Schaun, Maximiliano Isoppo

Efeito do treinamento físico sobre marcadores de estresse oxidativo e função endotelial em indivíduos sedentários de meia idade do sexo masculino. / Maximiliano Isoppo Schaun - Porto Alegre: Escola de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

81 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de Educação Física. Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano, Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Fisiologia do exercício. 2. Treinamento físico. 3. Estresse oxidativo. 4. Função endotelial.
I. Título. II. Oliveira, Álvaro Reischak de, orientador.

CDU: 796.012:612

*"O primeiro pecado
da humanidade foi a
fé, a primeira virtude
foi a dúvida."*

[Carl Sagan]

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer as pessoas que foram responsáveis diretas por tudo que alcancei e que ainda alcançarei na vida, meus pais. A minha mãe que tolerou e que ainda tolera absolutamente tudo com gestos de carinho e que está sempre ao meu lado, e a meu pai, que mesmo não estando presente para presenciar o término de mais essa etapa da minha vida, com certeza para ele seria a realização de um sonho assim como é para mim. Agradeço também a minha avó Cecília, que também apesar de não estar mais presente, sempre torceu por mim.

Gostaria de agradecer a uma pessoa muito especial, meu orientador, Professor Alvaro Reischak de Oliveira, que além de me dar a oportunidade de ingressar como seu aluno no curso de mestrado e depositar em mim sua confiança, sempre foi um amigo para todas as horas, desde momentos de diversão, que não foram poucos, até os momentos mais difíceis na minha vida pessoal. Muito obrigado por tudo!

Gostaria de agradecer também aos meus colegas de trabalho e amigos, Thiago Lorenzi, Daniel Garlipp, Miguel Cantori, Rodolfo Matos, Diego Correa e Erlon Santos e André Costa, que sempre estiveram presentes e com os quais sempre pude contar. Aos professores Rogério Furtado e Alexandre Martins, pelas ótimas partidas de pádel, que com certeza me ajudaram a relaxar e seguir em frente nessa jornada. E aos meus alunos, Telmo Damiani, Rosane Holz, Maria Beatriz, Barbara Martins, Sabrina Lorenzoni, Marcia Barreto e Cláudio Zanchi, que me apoiaram e toleraram minhas ausências com compreensão.

Aos meus vizinhos e amigos Bianca e Domingos, Vivian e Celito e Carlos Henrique (Jacaré), pelos momentos de descontração e apoio em momentos difíceis, obrigado.

Agradeço também aos meus colegas do grupo de pesquisas em fisiologia e bioquímica do exercício (GEFEX), Giovani Cunha, André Lopes, Orlando Laitano, Diana Perin, Geórgia Becker, Ana Paula Fayh, Jocelito Martins, Randhall Bruce, Josiane Rodrigues, Carlos Macedo, Katiuce Borges e Cíntia Stochero, que sempre se disponibilizaram a me ajudar em todos os momentos do desenvolvimento deste e de outros trabalhos.

Ao professores Rodrigo Plentz, Maria Cláudia Irigoyen e Thiago Dipp, do instituto de Cardiologia de Porto Alegre, que foram fundamentais na elaboração e desenvolvimento deste estudo.

Aos competentes e sempre solícitos funcionários do LAPEX, Dani, Luciano, Rafael e Alex, muito obrigado, vocês foram muito importantes durante minha formação.

Ao Professor Paulo Ivo Homem de Bittencourt Jr por me oferecer a estrutura de seu laboratório para a realização de meus experimentos e por sempre compartilhar seu conhecimento, agradeço também a todo o grupo de fisiologia celular (FISCEL).

Ao professor Ronei Pinto e todo seu grupo de pesquisas, que foram fundamentais na realização dos programas de treinamento deste projeto. Um agradecimento especial ao meu querido amigo e excelente pesquisador Eurico Nestor Wilhelm Neto, que foi fundamental em todas as etapas do trabalho, que se disponibilizou a trabalhar nas suas férias e com quem pude sempre contar para solucionar todos os problemas referentes ao projeto, com certeza sem sua ajuda não seria possível terminar o trabalho a tempo.

Por fim, gostaria de registrar meu agradecimento a sete pessoas muito especiais, que sempre estiveram ao meu lado, que ficaram comigo madrugada adentro fazendo experimentos no laboratório em mais de uma ocasião, que são responsáveis diretos pelo êxito e por grande parte do aprendizado que pude adquirir durante todo meu mestrado, que foram também responsáveis pelos momentos de descontração do meu dia-a-dia e que com certeza se tornaram amigos para toda minha vida, muito obrigado, Juliane Rossato, Anderson Rech, Lino Pinto, Isis Seibt, João Fernandes, Augustus Joli e Mauricio Krause, amo vocês.

SUMÁRIO

1. LISTA DE FIGURAS.....	7
2. LISTA DE TABELAS.....	8
3. LISTA DE ABREVIATURAS	9
4. APRESENTAÇÃO.....	11
5. INTRODUÇÃO.....	12
6. OBJETIVO GERAL.....	14
6.1. <i>Objetivos específicos.....</i>	14
7. ARTIGO 1, REVISÃO.....	15
7.1. <i>Resumo.....</i>	15
7.2. <i>Introdução.....</i>	16
7.3. <i>Estresse oxidativo e função endotelial.....</i>	17
7.4. <i>Estresse oxidativo função endotelial e exercício físico.....</i>	23
7.5. <i>Conclusões.....</i>	30
7.5. <i>Referências.....</i>	31
8. ARTIGO 2, ORIGINAL.....	40
8.1. <i>Resumo.....</i>	40
8.2. <i>Introdução.....</i>	41
8.3. <i>Métodos</i>	42
8.4. <i>Resultados.....</i>	48
8.5. <i>Discussão.....</i>	57
8.6. <i>Conclusão.....</i>	63
8.7. <i>Referências.....</i>	64
9. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	70
10. ANEXOS.....	71
10.1. <i>Termo de concordância FISCEL.....</i>	71
10.2. <i>Termo de concordância Instituto de Cardiologia.....</i>	72
11. APÊNDICE.....	73
11.1. <i>Termo de consentimento informado.....</i>	73
11.2. <i>Declaração.....</i>	75
11.3. <i>Ficha de anamnese.....</i>	76
11.4. <i>Ficha de composição corporal.....</i>	78

1. Lista de figuras

- 1.1. Figura 1: demonstração esquemática das funções do endotélio. (pag. 24)
- 1.2. Figura 2: percentual de dilatação mediada por fluxo antes e após treinamento. (pag. 45)
- 1.3. Figura 3: valores basais da relação dissulfeto de glutathione, glutathione reduzida (GSSG/GSH), antes e após o exercício. (pag. 46)
- 1.4. Figura 4: relação dissulfeto de glutathione, glutathione reduzida (GSSG/GSH), antes e após o exercício, após o treinamento. (pag. 47)
- 1.5. Figura 5: valores de dissulfeto de glutathione (GSSG) e glutathione reduzida (GSHred), antes e após o treinamento. (pag. 47)
- 1.6. Figura 6: valores basais de lipoperóxidos (ROOH) plasmáticos antes e após o exercício. (pag. 48)
- 1.7. Figura 7: lipoperóxidos (ROOH) plasmáticos antes e após o exercício após o treinamento. (pag. 48)
- 1.8. Figura 8: valores da fagocitose de zimosan, percentual total de macrófagos com partículas fagocitadas, pré e pós exercício, antes e após o treinamento. (pag. 49)

2. Lista de tabelas

- 2.1. Tabela 1: dados de caracterização da amostra, antes e após o treinamento. (pag. 44)
- 2.2. Tabela 2: parâmetros bioquímicos de caracterização da amostra antes e após o treinamento. (pag. 45)
- 2.3. Tabela 3: dados respectivos a avaliação da potência aeróbia ($VO_{2máx}$) e de força, avaliado pelo teste de 1 repetição máxima, nos exercício supino, extensão de joelho e puxada dorsal. (pag. 50)

3. Lista de abreviaturas

Ach	acetilcolina
ADMA	dimetilarginina assimétrica
BH ₄	tetrahidrobiopterina
BHT.....	hidroxibutiltolueno
BSA.....	albumina sérica
CaM	cálcio calmodulina
CAT	catalase
cNOS.....	óxido nítrico sintase constitutiva
CT	colesterol total
DAC.....	doença arterial coronariana
DTNB.....	ácido 5,5-ditio-bis-(2-nitrobenzóico)
ECG.....	eletrocardiograma
EDHFs.....	fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio
ELISA.....	do inglês, <i>enzyme-linked immunosorbent assays</i>
eNOS	óxido nítrico sintase endotelial
ERN.....	espécies reativas de nitrogênio
EROS	espécies reativas de oxigênio
ET-1.....	endotelina
Fe ²⁺	íon ferroso
FMD	dilatação mediada por fluxo
GPx	glutathione peroxidase
GR	glutathione reductase
GSH	glutathione
GSSG	dissulfeto de glutathione
GST	glutathione-S-transferase
HBSS.....	Hanks' balanced salt solution
HDL	lipoproteína de alta densidade
HOCl	ácido hipocloroso
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
I κ B	proteína inibidora do NF κ B

IL.....	interleucina
L-NAME	N (G)-nitro-L- arginine methyl ester
MDA	malondialdeído
MeOH.....	metanol
MPA.....	ácido metafosfórico
NADP	niconinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPHoxidase.....	niconinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase reduzida
NE	norepinefrina
NEM	N-etilmaleimida
NF κ B.....	fator nuclear kappa B
NO	óxido nítrico
O $_2^-$	radical superóxido
OH $^-$	radical hidroxil
ONOO $^-$	peróxinitrito
PCRus	proteína C reativa ultra sensível
PBS.....	salina tamponada com fosfato
PIPES	piperazina-N,N'-bis-(etanossulfônico)
RLs	radicais livres
RM	repetição máxima
ROOH.....	lipoperóxidos
SFB	soro fetal bovino
SOD	superóxido dismutase
SoGC	guanilil ciclase solúvel
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
u.a.	unidades arbitrárias
VEGF	fator de crescimento vascular endotelial
VO $_{2\text{máx}}$	consumo máximo de oxigênio
8-OHdG	8-hidróxi-2-deoxiguanosina

4. Apresentação

Este trabalho teve como característica um estudo comparativo entre dois métodos de treinamento. Consistindo na realização de dois programas de treinamento, um aeróbio de intensidade moderada e o outro concorrente, com componentes aeróbios e de força e com incrementos de carga. Considerando poucos dados na literatura a respeito do treinamento aeróbio combinado com treinamento de força em indivíduos de meia idade, e a escassez de dados sobre os efeitos do treinamento dessa natureza sobre os parâmetros analisados neste trabalho, esperamos que os resultados deste estudo contribuam para os diferentes profissionais da área da saúde, tanto de forma técnica quanto científica.

Esta dissertação será apresentada na forma de dois artigos. O primeiro se trata de uma revisão de literatura sobre função endotelial e estresse oxidativo, bem como as consequências de situações de disfunção desses sistemas, abordando a formação dos radicais de oxigênio e nitrogênio, além de mecanismos de defesa antioxidante, e finalmente a modulação desses sistemas pelo treinamento físico, discutindo a respeito de respostas agudas e crônicas. O segundo é um artigo original, com os dados obtidos a partir do projeto de pesquisa acima citado.

5. Introdução

Com o avanço da idade da população associado aos hábitos de vida modernos como, tabagismo, a grande procura por “fast foods”, resultando na ingestão de alimentos de baixa qualidade do ponto de vista nutricional, e principalmente, a cada vez maior inatividade física, surge uma epidemia relacionada à obesidade, resistência a insulina e diabetes no mundo. As conseqüências dessas condições em longo prazo podem ser preocupantes.

A aterosclerose se torna cada vez mais comum na vida adulta, e sua ocorrência cada vez mais precoce. Tendo início na infância e progredindo na adolescência, resulta em lesão da parede vascular e causa manifestação clínica de doença arterial coronariana (DAC) em indivíduos de meia idade ou mais velhos. Os fatores de risco para DAC estão associados com aterosclerose durante a adolescência e nos primeiros anos de maioridade, décadas antes da ocorrência da DAC propriamente dita.

O endotélio vascular exerce um importante papel na regulação do tônus vascular e na manutenção da homeostase cardiovascular, e aparentemente, o comprometimento deste tecido está associado com diversas situações patológicas como, diabetes, hipertensão e aterosclerose. Há fortes evidências de que um dos principais fatores que afetam a integridade do leito circulatório, e principalmente do microcirculatório, é o estresse oxidativo. A produção aumentada do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), uma espécie reativa do metabolismo do oxigênio (ERO), tem sido implicada como mecanismo patogênico que promove a disfunção endotelial e ativação plaquetária, contribuindo para o desenvolvimento da aterosclerose e os demais fatores de risco para mortalidade relacionados.

O exercício físico regular é associado com alterações benéficas na pressão sangüínea, metabolismo lipídico, metabolismo da glicose, fatores neuro-hormonais, peso corporal e estresse de cisalhamento, além de aumentos na capacidade antioxidante, enzimática e não enzimática.

Observa-se que predomina na literatura o treinamento de natureza aeróbia como estratégia metodológica para a investigação dos diferentes efeitos do exercício em situações patológicas de natureza cardiovascular, deixando-se muitas vezes de considerar benefícios, como aumento, ou

recuperação da massa muscular esquelética, aumento do metabolismo basal, aumento de força, dentre outros que o treinamento de força pode trazer para estes indivíduos. Do ponto de vista metodológico, a combinação do treinamento de força ao treinamento aeróbio pode ser mais difícil de ser executado, bem como a adesão dos participantes ao programa de treinamento.

Neste trabalho, foi utilizado os dois tipos de treinamento, o treinamento combinado de musculação e trabalho aeróbio, também chamado de treinamento concorrente, e o tradicional treinamento aeróbio. Como estratégia metodológica, foi levado em consideração importantes resultados a respeito do treinamento de força. Na revisão publicada por CARPINELLI e OTTO em 1998, que teve como objeto de estudo o polêmico tema a respeito do número de séries a ser utilizado em programas de treinamento de força, foi concluído que, para programas de treinamento com duração de 4 a 25 semanas para indivíduos iniciantes, não há diferenças quanto a aumentos de força ou hipertrofia, quando comparados os resultados de programas de treinamento com séries múltiplas com programas que utilizaram séries simples. Desta forma, visando uma melhor aderência dos participantes ao programa de treinamento, foi utilizado como estratégia o treinamento com séries únicas, tornando assim o programa de treinamento mais rápido e prático para os participantes.

6. Objetivo geral

- Avaliar os efeitos do treinamento aeróbio e concorrente sobre parâmetros de estresse oxidativo, função endotelial e atividade funcional de monócitos macrófagos em indivíduos do sexo masculino sedentários de meia idade.

6.1. Objetivos específicos

- Descrever o sexo, a idade e o nível de aptidão física dos participantes, bem como os níveis basais, perfil lipídico, proteína C reativa, glicemia e composição corporal.
- Determinar as cargas de trabalho para o treinamento aeróbio e para o treinamento de força do grupo que realizou o treinamento concorrente.
- Determinar os valores de dilatação mediada por fluxo por meio de ultrassom da artéria braquial antes da primeira e depois da 13^a sessões de treinamento dos participantes
- Verificar o efeito agudo do exercício, antes do treinamento, sobre os parâmetros de estresse oxidativo e atividade funcional de monócitos/macrófagos nos dois grupos de treinamento.
- Verificar o efeito crônico do exercício, após 12 semanas de treinamento, sobre os parâmetros de estresse oxidativo e atividade funcional de monócitos/macrófagos em ambos os grupos.
- Verificar os efeitos do treinamento sobre o nível de aptidão física e a composição corporal dos participantes, bem como sobre os valores do perfil lipídico, proteína C reativa e glicemia.

7. Artigo de revisão

8. Artigo de revisão

Função endotelial, estresse oxidativo e exercício físico

Maximiliano Isoppo Schaun, Rodrigo Plentz, Alvaro Reischak de Oliveira e
Maria Cláudia Irigoyen

Resumo

O endotélio é responsável direto pela modulação do tônus vascular, inibição da proliferação de células musculares lisas vasculares, manutenção da propriedade antiaderente do próprio endotélio e inibição da agregação plaquetária. Esses efeitos são diretamente mediados pelo óxido nítrico (NO), que é o principal fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF). As espécies reativas de oxigênio (EROS), juntamente com um perfil dislipidêmico, talvez sejam os principais fatores que podem trazer comprometimento das funções do endotélio, ao mesmo tempo predizendo o desenvolvimento de angiopatias generalizadas. O treinamento físico modula positivamente as respostas antioxidantes, além de melhorar o controle glicêmico e o perfil lipídico dos participantes, diminuindo fatores de risco para desenvolvimento de disfunção endotelial e conseqüentes angiopatias. Este trabalho teve como objetivo fazer uma breve revisão a respeito das funções do endotélio e sobre os mecanismos de formação e de ação das EROS, além de fornecer uma visão da modulação das respostas do endotélio e de estresse oxidativo (EO) ao exercício e ao treinamento físico.

Palavras chave: Endotélio, treinamento físico, tônus vascular, antioxidantes, fator hiperpolarizante derivado do endotélio. Conferir DeCs

9. Introdução

Existe uma epidemia relacionada à obesidade, resistência à insulina, diabetes e conseqüentes angiopatias no mundo (1). Com o envelhecimento da população e a longevidade, as conseqüências dessas condições em longo prazo são preocupantes. De acordo com a *american heart association*, apenas em 2004 nos EUA, mais de 800.000 pessoas morreram de doenças do sistema cardiovascular (2).

A aterosclerose se torna mais comum na vida adulta, e sua ocorrência cada vez está mais precoce. Esta doença tem início na infância, progride na adolescência e nos primeiros anos da maioridade (3), resultando em lesões da parede vascular e causando manifestações clínicas de doença arterial coronariana (DAC) em indivíduos de meia idade ou mais velhos (3, 4). Os fatores de risco para a DAC estão associados com aterosclerose durante a adolescência e nos primeiros anos de maioridade (5), décadas antes da ocorrência de DAC propriamente dita, e com lesões da parede vascular em adultos mais velhos (6). Está frase está confusa

O endotélio vascular exerce um importante papel na regulação do tônus vascular e na manutenção da homeostasia cardiovascular (7). A disfunção endotelial está diretamente relacionada à doença vascular aterosclerótica e a eventos cardiovasculares agudos (8).

O treinamento físico tem se mostrado eficiente em promover aumentos na dilatação dependente do endotélio, assim como na expressão da óxido

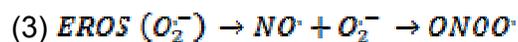
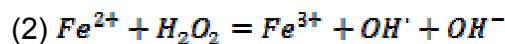
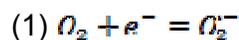
nítrico sintase constitutiva (cNOS) em modelos animais (9), em humanos saudáveis (10-12) e em pacientes com insuficiência cardíaca (13). Está também associado com alterações benéficas na pressão sanguínea, metabolismo lipídico, metabolismo da glicose, fatores neuro-hormonais, peso corporal, além de aumentar a capacidade antioxidante, enzimática e não enzimática, e promover um aumento no número de células progenitoras endoteliais circulantes (10).

Estresse oxidativo e função endotelial

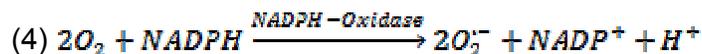
Radicais livres (RLs) são átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados e, em função disso, apresentam acentuada reatividade química. Sua reatividade resulta da necessidade de captar um elétron de direção oposta no spin (14). Os RLs são produzidos naturalmente em nosso organismo através dos processos metabólicos oxidativos, exercendo papel biológico fundamental tanto no controle da homeostasia, como na ativação do sistema imunológico, na desintoxicação de drogas e na produção do fator relaxante derivado do endotélio, o óxido nítrico (NO) (15). No entanto, estes radicais possuem também um potente efeito oxidante, podendo facilmente subtrair elétrons de outras moléculas, dando base para seu efeito deletério contra lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e a matriz extracelular. Infelizmente, ao contrário de proteínas e lipídeos, novas moléculas de DNA não podem ser sintetizadas para substituir as danificadas (16)

Os RLs de maior importância biológica são os radicais superóxido (O_2^-), que é formado pela adição de um elétron ao oxigênio molecular tornando-o altamente reativo (equação 1), o radical hidroxil (OH^-), formado principalmente

pela reação do peróxido de hidrogênio com metais de transição (equação 2) e o NO. Não-radicais derivados do oxigênio, assim como o ozônio e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que são mais reativos que o oxigênio, são também capazes de induzir dano oxidativo. Derivados oxidantes secundários podem resultar da reação de um RL com outro, como por exemplo, o H₂O₂, o peroxinitrito (ONOO⁻) (equação 3) e o ácido hipocloroso (HOCl), eles também contribuem para o estresse oxidativo devido ao fato de apresentarem ainda maior toxicidade do que os RLs originais (16,17)



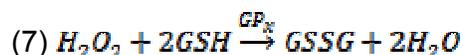
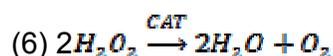
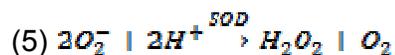
No sistema imunológico, neutrófilos e macrófagos, encarregados de eliminar agentes invasores (antígenos), podem produzir O₂⁻ através do sistema da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) oxidase (equação 4), reação chamada de “burst oxidativo” (18).



Contra os efeitos deletérios das EROS existem os sistemas antioxidantes, que podem ser definidos **como** substâncias que reduzem a intensidade ou severidade do estresse oxidativo, tanto pela formação de radicais menos reativos quanto por frear as reações de danos em cadeia dos radicais livres sobre proteínas, lipídeos e DNA (19). Estas ações podem ser realizadas por uma substância que mesmo presente em baixas concentrações,

quando comparado com o substrato oxidável, significativamente reduz, atrasa ou previne a oxidação desse substrato (18).

As defesas antioxidantes consistem de um elaborado sistema de defesa composto por enzimas como: a SOD, que catalisa a dismutação do O_2^- e a formação de H_2O_2 (equação 5) (19), a catalase (CAT), que converte H_2O_2 em água e O_2 (reação 6) (16,20) e a glutathione peroxidase (GPx), que reduz principalmente H_2O_2 utilizando GSH como doador de elétrons, formando dissulfeto de glutathione (GSSG) e duas moléculas de água (16,18, 20) (reação 7).



Além dos numerosos antioxidantes enzimáticos, existem também uma série de antioxidantes não-enzimáticos, incluindo principalmente as vitaminas A, C e E, glutathione (GSH), ubiquinona e flavonóides (21), intra ou extracelulares. Estes antioxidantes possuem importantes funções na proteção do organismo contra a ação das EROS, principalmente impedindo o início de uma série de reações de oxidação em cadeia e agindo também como agentes redutores para antioxidantes que sofreram oxidação (22-28). A eficiência do sistema antioxidante depende do status nutricional e da produção endógena de enzimas antioxidantes, que pode ser modificada pelo exercício, treinamento, status nutricional e envelhecimento (19).

Diretamente influenciado pela ação das EROS está o tecido endotelial vascular, que exerce um importante papel na regulação do tônus vascular e na manutenção da homeostasia cardiovascular (7). A célula endotelial também é fundamental no controle da trombólise, remodelação vascular e na resposta inflamatória pela ativação do sistema imunológico (29).

A liberação do NO, pelas células endoteliais, se dá pela entrada de cálcio no espaço intracelular, causando a abertura de canais de cálcio não seletivos, que são ativados principalmente por mediadores químicos como a acetilcolina, bradicinina e insulina, que causam a ligação da calmodulina à óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), promovendo a quebra da ligação da enzima com uma proteína inibitória chamada caveolina, tornando-a ávida por produzir NO a partir do aminoácido L-arginina (30). Além do NO, inúmeros fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio (EDHFs), além da abertura de junções comunicantes, podem causar a hiperpolarização das células musculares lisas adjacentes (31). A hiperpolarização da célula muscular lisa vascular, seja por ação do NO ou por outro EDHF, ativa a guanilil ciclase solúvel (SoGC), aumentando a formação de guanosina monofosfato cíclico (GMPc), a partir de guanosina monofosfato (GMP), resultando em redução das concentrações de cálcio citoplasmático e conseqüente relaxamento da célula muscular lisa (32,33).

É importante notar que a disfunção endotelial, particularmente a diminuição da capacidade vasodilatadora, tem sido relacionada à patogênese da doença vascular aterosclerótica e eventos cardiovasculares agudos (8). A vasodilatação dependente do endotélio não está prejudicada somente em casos clinicamente diagnosticáveis de angiopatias, mas também em situações

de fatores de risco vasculares convencionais (34), a prejudicada vasodilatação dependente do endotélio é uma característica comum de diversos fatores de risco da aterosclerose, incluindo diabetes (35), hipertensão (36), dislipidemia (8) e envelhecimento (37). Dados do nosso laboratório demonstraram que além da função endotelial arterial, a função endotelial venosa também está prejudicada em pacientes diabéticos do tipo II com microalbuminúria (38) e em pacientes com doença de Chagas, mesmo que sem insuficiência cardíaca (39).

As EROS (principalmente o $O_2^{\bullet-}$) estão entre os principais fatores contribuintes para a disfunção endotelial, e conseqüentemente o comprometimento da complacência vascular. A ação das EROS no tecido endotelial promove a oxidação de proteínas e lipídeos e ao mesmo tempo reduz a biodisponibilidade de NO^{\bullet} (equação 3) (40). A produção aumentada do $O_2^{\bullet-}$ tem sido implicada como mecanismo patogênico que promove a disfunção endotelial e ativação plaquetária, contribuindo para o desenvolvimento da aterosclerose (41).

A maior fonte de $O_2^{\bullet-}$ nas células endoteliais vasculares, células musculares lisas vasculares e plaquetas, são as oxidases ligadas a membranas, que utilizam NADPH como substrato (42). As fontes mais relevantes de EROS que dizem respeito à doença vascular e hipertensão, aparentemente, são a xantina oxidase, a eNOS desacoplada e a NADPH oxidase (43). Estudos recentes têm demonstrado que, sob certas circunstâncias, a eNOS pode tornar-se enzimaticamente desacoplada de importantes co-fatores, produzindo $O_2^{\bullet-}$ preferivelmente ao NO (44). Dentre os possíveis mecanismos, temos o aumento na quantidade do inibidor endógeno da eNOS, a dimetilarginina assimétrica (ADMA-asymmetrical dimethylarginine),

aumento na quantidade de agentes vasoconstritores, como a angiotensina II, endotelina-1 (ET-1), norepinefrina (NE), bem como a inativação da produção de NO pelas EROS (45).

A figura 1 demonstra esquematicamente os principais mecanismos de regulação das respostas vasculares pelo endotélio.

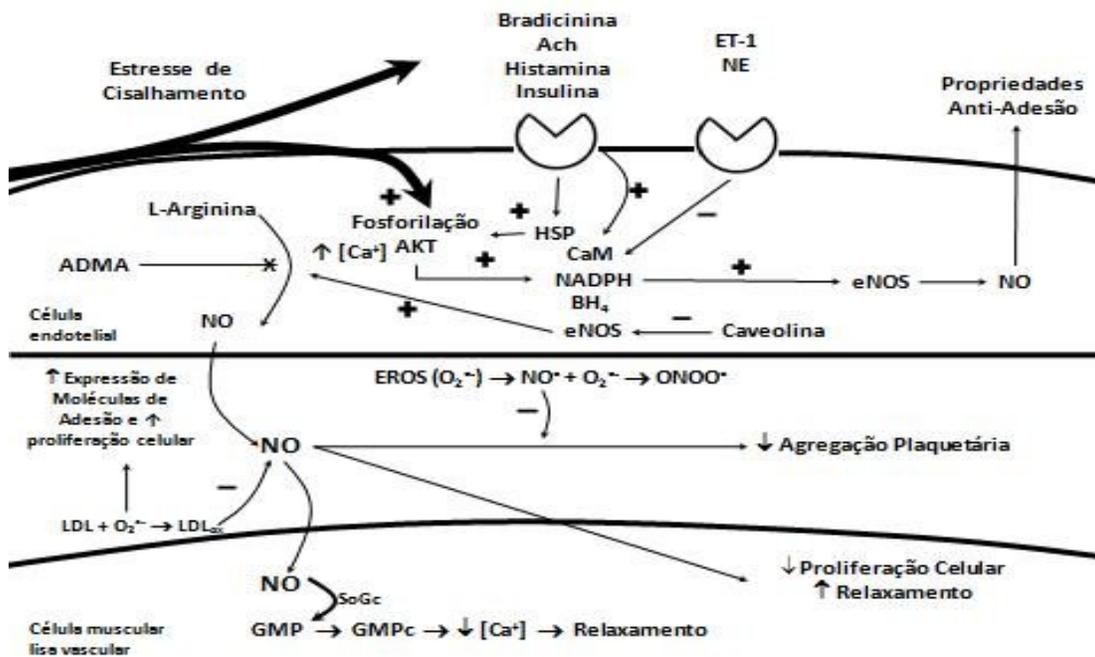


Figura 1: demonstração esquemática dos mecanismos de modulação pelo endotélio do tônus vascular, além de manutenção de respostas antiproliferativas, propriedades antiaderentes e inibição da agregação plaquetária, Além de conseqüências da ação das EROS na redução da biodisponibilidade do NO. Acetilcolina (Ach); endotelina (ET-1); norepinefrina (NE); heat shock protein (HSP); calmodulina (CaM); nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH); peróxinitrito ($ONOO^*$); tetrahydrobiopterina (BH_4); dimetilarginina assimétrica (ADMA); lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDL_{ox}); guanosina monofosfato (GMP); guanosina

monofosfato cíclica (GMPc); guanilil ciclase solúvel (SoGC). (adaptado de VANHOUTTE PM et al., 2009 [46] ; LUZ PL, et al., 2005[29]).

Estresse oxidativo, função endotelial e exercício físico

Respostas agudas

O efeito agudo do de diferentes tipos de exercício (força e aeróbio), causa diferentes respostas em importantes parâmetros que influenciam o sistema cardiovascular, principalmente a pressão arterial (47). Durante o exercício físico (EF), as necessidades metabólicas celulares envolvem um aumento expressivo no débito cardíaco e ajustes hemodinâmicos que incluem vasoconstrição em regiões não-ativas e dilatação nos vasos de resistência da musculatura esquelética ativa, levando a uma adaptação vascular sistêmica (48). Estes efeitos agudos das sessões de exercício, principalmente em exercícios de longa duração e intensidade moderada, parecem aumentar a longevidade de ratos (49), reduzirem a incidência de doenças como o câncer e doenças cardiovasculares em humanos, aumentando assim a expectativa de vida (50,51).

Um considerável número de estudos tem demonstrado que pode ocorrer estresse oxidativo após uma sessão de EF (17, 52, 53). O aumento do fluxo de elétrons na cadeia respiratória, provocado pelo aumento do consumo de oxigênio induzido pelo EF, aumenta o percentual de redução monovalente das moléculas de oxigênio, resultando na formação aumentada de $O_2^{\bullet-}$. Além disso, o dano tecidual resultante da sessão de exercício ativa uma resposta de células inflamatórias, resultando em aumento da produção de EROS provenientes da via da NADPH oxidase (54).

Embora tenham sido detectados efeitos estimulantes do EF sobre o sistema antioxidante enzimático os dados ainda são contraditórios. O EF parece induzir aumento na atividade da GPx e da SOD, embora os efeitos deste tipo de intervenção sejam menos aparentes sobre a atividade da CAT (17). Parece que todo sistema de defesa antioxidante (endógeno e exógeno) atua em cooperação promovendo proteção ao organismo (55). Está claro que o estresse oxidativo também ocorre em EF de alta intensidade (56, 57), entretanto, parece necessário um melhor esclarecimento sobre qual é esta intensidade e relacioná-la com o nível de condicionamento físico dos atletas submetidos às diferentes intensidades. Em nosso laboratório, SCHNEIDER et al, (2005) compararam indivíduos não-treinados com indivíduos treinados e observaram que os últimos apresentavam menor lipoperoxidação em diferentes intensidades de exercício, além de uma maior atividade enzimática antioxidante avaliada nos eritrócitos (53).

Experimentos com modelos animais (58,59) mostraram que o exercício aeróbio melhora a função endotelial em ratos. MEILHAC O, et al., 2001, verificaram o papel das defesas antioxidantes na parede arterial e o efeito do EF na aterosclerose em ratos. O exercício agudo aumentou os anticorpos de modificação de proteínas oxidativas, além de aumentar a atividade e expressão da CAT na parede arterial normal de ratos comparados com controle sedentários (58). LENNON SL, et al., 2004, quando comparou o efeito protetor do exercício moderado com o de alta intensidade, também pode verificar que ambos protegem contra a isquemia-reperfusão através do aumento da resposta antioxidante (59).

No recente trabalho realizado por MERGENER et al (2009), foram avaliados os níveis de malondialdeído (MDA), GPx e dano ao DNA pelo ensaio COMETA em idosos fisicamente ativos comparados com controles sedentários após um protocolo de exercício (60). Foram encontrados valores aumentados de MDA e reduzidos de GPx no grupo fisicamente ativo quando comparado com o controle. O índice de dano ao DNA após o exercício foi maior em ambos os grupos. Isso mostra que o exercício, apesar de trazer diversos benefícios para a saúde diminuindo o risco de mortalidade, aumenta muito a produção de EROS. Essa resposta parece estar relacionada com a intensidade e o volume do exercício realizado, o que sugere a importância do planejamento do treinamento.

Considerando que a reduzida biodisponibilidade de NO, como citado acima, é um dos principais fatores responsáveis pela aterogênese, e que a disponibilidade do NO, assim como a integridade do tecido endotelial, é diretamente influenciada pela ação das EROS, mais especificamente pelo balanço entre antioxidantes e a produção de pró- oxidantes, parece claro que o exercício, em intensidade e duração adequados, seja um método eficiente de prevenir fatores de risco para o desenvolvimento de doenças do sistema cardiovascular em geral.

Respostas crônicas

Os primeiros estágios da aterosclerose podem ser detectados através da observação de algumas mudanças na parede arterial precocemente, como espessamento da camada íntima (61,62). Alguns estudos têm verificado que o exercício aeróbio regular pode prevenir a perda da vasodilatação dependente

do endotélio, além de recuperar os níveis de vasodilatação em indivíduos de meia idade sedentários e em homens mais velhos, estando também associado com alterações benéficas na pressão sanguínea, metabolismo lipídico, metabolismo da glicose, fatores neuro-hormonais, peso corporal e estresse de cisalhamento, bem como melhora nas defesas antioxidantes (45, 63).

No trabalho realizado por MAIORANA (2001) foi verificado se o treinamento físico seria capaz de melhorar a função vascular sistemicamente em pacientes com diabetes tipo II (64). Os indivíduos foram avaliados quanto a sua função vascular, pelo método de dilatação mediada por fluxo (FMD), para a avaliação do fluxo no antebraço foi utilizado o método de pletismografia de oclusão venosa. Após 8 semanas de treinamento concorrente, foi encontrada uma melhora significativa na FMD em resposta a hiperemia reativa, assim como do fluxo sanguíneo no antebraço, mostrando claramente uma melhora na função endotelial. Esses resultados são suportados pelos dados recentes de MATSUMOTO Y, et al., (2010) que demonstraram que ratos que se exercitavam regularmente, mesmo que recebendo uma dieta hipercolesterolêmica, reduziram estresse oxidativo, preservaram as funções do endotélio e diminuíram inflamação, quando comparados com grupo sedentário (65).

Foi também demonstrado a eficácia do treinamento de força e aeróbio na função endotelial no trabalho realizado por Watts et al (2004), que avaliaram o efeito de oito semanas de treinamento em circuito sobre anormalidades na função endotelial de indivíduos obesos jovens (66), avaliada pelo método de FMD. O treinamento normalizou a FMD dos indivíduos quando comparados com os controles que não apresentavam valores de FMD característicos de

disfunção endotelial. Adicionalmente, no trabalho realizado por KINGWELL BA, et al, (1997), com quatro semanas de treinamento em cicloergômetro demonstrou melhora na função do NO nos vasos de resistência do antebraço de indivíduos saudáveis (11). É consenso entre a grande maioria dos autores citados que o efeito do treinamento físico na função endotelial parece ser devido ao impacto generalizado de variáveis hemodinâmicas agindo através de um estresse de cisalhamento muito aumentado na parede vascular, causando, de forma crônica, um aumento na atividade e expressão de enzimas como eNOS, SOD e GPx, além de reduzir os danos pela atividade da NADPH oxidase (46). Apenas o exercício moderado realizado de forma regular parece favorecer eficientemente os sistemas antioxidantes e preservar as funções do endotélio (67). Além de fatores hemodinâmicos, uma alta capacidade aeróbia ($VO_{2máx}$) se mostrou associada com um grande diâmetro em resposta a hiperemia reativa em indivíduos idosos treinados quando comparados com indivíduos idosos sedentários. Essa associação resulta de uma grande capacidade de vasodilatação endotélio dependente em indivíduos que treinam pelo menos três vezes na semana por no mínimo 1 hora por dia (68).

Contrariamente, RAURAMAA et al, (2004), não verificaram nenhuma redução no espessamento da íntima média da parede vascular, de indivíduos de meia idade (que utilizam ou não tratamento com estatinas) que submeteram-se a 6 anos de um programa de treinamento aeróbio moderado e que foram avaliados com ultrasonografia da bifurcação da artéria carótida (10MHZ) (69). No entanto, quando um subgrupo de indivíduos não tratados com estatinas foram analisados separadamente, o exercício se mostrou eficiente em reduzir a progressão da aterosclerose. Deste modo, os autores

concluíram que a medicação pode mascarar os efeitos do exercício nessa população. Resultados semelhantes foram encontrados por DINENNO FA & TANAKA H, et al (2001), em indivíduos de meia idade que não utilizavam a medicação, apenas comparando indivíduos treinados com controles sedentários (70).

Quando investigado (10) efeito de 12 semanas de treinamento de corrida na angiogenese, através da mensuração do número de células progenitoras endoteliais circulantes, o nível de fatores de crescimento vasculares e função vascular avaliada pelo método de FMD, além da mensuração dos produtos de degradação da rota do NO em pacientes com doença arterial coronariana e fatores de risco cardiovasculares. Foi encontrado um número significativamente maior de células progenitoras endoteliais circulantes, que se mostrou positivamente relacionado com os valores de FMD e com o aumento na síntese de NO, mostrando que o treinamento melhorou a funcionalidade do tecido endotelial. Apesar de os níveis plasmáticos do fator de crescimento endotelial vascular e de eritropoietina, não terem se alterado em resposta ao exercício, porém, foi encontrada uma correlação positiva entre o número de células progenitoras endoteliais e os níveis de eritropoietina circulantes antes e após o período de treinamento.

Apesar de o mecanismo da melhora da função endotelial durante o EF não estar totalmente elucidado, acredita-se que o EF aeróbio aumenta a produção de NO com uma regulação à maior expressão gênica da eNOS (45). Outra importante forma de proteção, conferida pelo treinamento contra o estresse oxidativo, é a rota do fator nuclear kappa B (NF- κ B). O NF- κ B é um fator de transcrição que reside de forma inativa no citosol, por estar ligada a uma

proteína inibitória de sua ação, o I κ B (71). A ligação direta de EROS com o NF- κ B é capaz de translocá-lo para o núcleo, ligando-se a uma série de genes específicos e aumentando a expressão de enzimas antioxidantes como, por exemplo, a SOD (72).

No trabalho de HUSAIN (2001), foi examinado o efeito do treinamento físico sobre a frequência cardíaca e a pressão arterial em condições de inibição da eNOS em ratos (73). Os animais foram divididos em 4 grupos, sedentário, treinamento, um que foi tratado com um inibidor da eNOS (L-NAME) e o último que realizou o treinamento e utilizou juntamente L-NAME. O exercício aumentou a produção de NO, os níveis de GSH, a relação GSH/GSSG, além do aumentar a expressão de enzimas antioxidantes e reduzir a lipoperoxidação. A administração crônica de L-NAME diminuiu os valores de todos os parâmetros bioquímicos, com exceção dos valores de MDA, lactato, frequência cardíaca e pressão sanguínea, que aumentaram significativamente. A interação exercício e L-NAME normalizou os valores de NO, da relação GSH/GSSG, atividade de SOD e GST, e aumentou a atividade da CAT, GPx e GR, além de diminuir os valores de MDA, frequência cardíaca e pressão arterial quando comparados com o grupo tratado com L-NAME. Esses dados sugerem que o treinamento diminui os danos oxidativos causados pela inibição da NOS aumentando os níveis de NO, a razão GSH/GSSG, a atividade das enzimas antioxidantes e diminuindo a pressão arterial.

Os efeitos do treinamento na função endotelial parecem ser devidos a manutenção de um estado quiescente do endotélio, amplamente mediado pelo NO, tendo como efeito a inibição da inflamação, proliferação celular e trombose, devido a uma nitrosilação dos resíduos de cisteína de diversas

proteínas (NF- κ B, proteínas controladoras de ciclo celular), reduzindo suas atividades biológicas (74, 75). O estresse de cisalhamento laminar parece ser o principal fator que mantém este fenótipo quiescente do endotélio (76).

Conclusões

O treinamento físico é capaz de melhorar a função do tecido endotelial, principalmente através do aumento das respostas das respostas antioxidantes, enzimáticas e não enzimáticas, reduzindo os níveis de estresse oxidativo e aumentando a biodisponibilidade do óxido nítrico. Mais estudos são necessários para se conhecer melhor os mecanismos e efeitos específicos de diferentes intensidades, volumes e tipos de treinamento físico sobre as respostas adaptativas do endotélio.

Referências

1. Hill JO, Bessesen D. What to do about the metabolic syndrome? *Arch Intern Med.* 2003;163(4):395-7.
2. Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A, Greenlund KN, et al. Heart disease and stroke statistics--2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation.* 2007;115(5):e69-171.
3. Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, Tracy RE, Newmanl WP. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Study. *JAMA.* 1999;281(8):727-35.
4. McGill JR H, Geer J, Strong J. Natural history of human atherosclerotic lesions. In: Sandler M, Bourne G, eds. *Atherosclerosis and its origin.* New York: Academic Press; 1963.
5. McGill HC, McMahan Jr CA, Herderick EE, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, et al. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation.* 2002;105(23):2712-8.
6. Staron RS, Hikida RS, Hagerman FC, Dudley GA, Murray TF. Human skeletal muscle fiber type adaptability to various workloads. *J Histochem Cytochem.* 1984;32(2):146-52.
7. Glasser SP, Selwyn AP, Ganz P. Atherosclerosis: risk factors and the vascular endothelium. *Am Heart J.* 1996;131(2):379-84.
8. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME, Gallagher SJ, Coleman SM, Loscalzo J, et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest.* 1990;86(1):228-34.

9. Sun D, Huang A, Koller A, Kaley G. Short-term daily exercise activity enhances endothelial NO synthesis in skeletal muscle arterioles of rats. *J Appl Physiol.* 1994;76(5):2241-7.
10. Steiner S, Niessner A, Ziegler S, Richter B, Seidinger D, Pleiner J, et al. Endurance training increases the number of endothelial progenitor cells in patients with cardiovascular risk and coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2005;181(2):305-10.
11. Kingwell BA, Sherrard B, Jennings GL, Dart AM. Four weeks of cycle training increases basal production of nitric oxide from the forearm. *Am J Physiol.* 1997;272(3 Pt 2):H1070-7.
12. Hambrecht R, Fiehn E, Weigl C, Gielen S, Hamann C, Kaiser R, et al. Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 1998;98(24):2709-15.
13. Maiorana A, O'Driscoll G, Dembo L, Cheetham C, Goodman C, Taylor R, et al. Effect of aerobic and resistance exercise training on vascular function in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;279(4):H1999-2005.
14. Asmus K. Free radical chemistry. *Handbook of oxidants and Antioxidants in Exercise* Amsterdam: Elsevier; 2000.
15. Schneider C, Oliveira A. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte.* 2004;10:308 - 313.
16. Christopher M. Exercise-Associated Oxidative Stress. *Clinical Techniques in Equine Practice.* 2003;2:278-291.

17. Niess AM, Dickhuth HH, Northoff H, Fehrenbach E. Free radicals and oxidative stress in exercise--immunological aspects. *Exerc Immunol Rev.* 1999;5:22-56.
18. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports Med.* 2006;36(4):327-58.
19. Dekkers JC, van Doornen LJ, Kemper HC. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 1996;21(3):213-38.
20. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun.* 1990;9(1):1-32.
21. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* 2003;189(1-2):41-54.
22. Herrling T, Jung K, Fuchs J. Measurements of UV-generated free radicals/reactive oxygen species (ROS) in skin. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2006;63(4):840-5.
23. Evans WJ. Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(2 Suppl):647S-52S.
24. Coombes JS, Powers SK, Demirel HA, Jessup J, Vincent HK, Hamiltonet KL, et al. Effect of combined supplementation with vitamin E and alpha-lipoic acid on myocardial performance during in vivo ischaemia-reperfusion. *Acta Physiol Scand.* 2000;169(4):261-9.
25. Powers S, Lennon S. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 2000;58:1025-33.
26. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes.* 1997;46 Suppl 2:S14-8.

27. Sevanian A, Davies KJ, Hochstein P. Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *Am J Clin Nutr.* 1991;54(6 Suppl):1129S-1134S.
28. Kean RB, Spitsin SV, Mikheeva T, Scott GS, Hooper DC. The peroxynitrite scavenger uric acid prevents inflammatory cell invasion into the central nervous system in experimental allergic encephalomyelitis through maintenance of blood-central nervous system barrier integrity. *J Immunol.* 2000;165(11):6511-8.
29. Luz PL. *Endotélio e doenças cardiovasculares* São Paulo: Ateneu; 2005. (1, ed.).
30. Brovkovich V, Dobrucki LW, Brovkovich S, Dobrucki I, Do Nascimento CA, Burewicz A, et al. Nitric oxide release from normal and dysfunctional endothelium. *J Physiol Pharmacol.* 1999;50(4):575-86.
31. Busse R, Edwards G, Feletou M, Fleming I, Vanhoutte PM, Weston AH. EDHF: bringing the concepts together. *Trends Pharmacol Sci.* 2002;23(8):374-80.
32. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980;288(5789):373-6.
33. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J.* 1989;3(9):2007-18.
34. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol.* 1994;24(6):1468-74.

35. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 1993;88(6):2510-6.
36. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Fasolo CB, Sudano I, et al. Hypertension causes premature aging of endothelial function in humans. *Hypertension*. 1997;29(3):736-43.
37. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Gennari A, Fasolo CB, et al. Aging and endothelial function in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *Circulation*. 1995;91(7):1981-7.
38. Silva AM, Schaan BD, Signori LU, et al. Microalbuminuria is associated with impaired arterial and venous endotheliumdependent vasodilation in patients with type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest*. 2010 Mar 30. [Epub ahead of print].
39. Plentz RD, Irigoyen MC, Muller AS, et al. Venous endothelial dysfunction in Chagas' disease patients without heart failure. *Arq Bras Cardiol*. 2006;86(6):466-71.
40. Wolin MS. Interactions of oxidants with vascular signaling systems. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(6):1430-42.
41. Keaney JF, Jr., Loscalzo J. Diabetes, oxidative stress, and platelet activation. *Circulation*. 1999;99(2):189-91.
42. Griending KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 1994;74(6):1141-8.
43. Paravicini TM, Touyz RM. Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc Res*. 2006;71(2):247-58.

44. Dixon LJ, Hughes SM, Rooney K, Madden A, Devine A, Leahey W, et al. Increased superoxide production in hypertensive patients with diabetes mellitus: role of nitric oxide synthase. *Am J Hypertens*. 2005;18(6):839-43.
45. Higashi Y, Yoshizumi M. Exercise and endothelial function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacol Ther*. 2004;102(1):87-96.
46. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang EH, Feletou M. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiol (Oxf)*. 2009;196(2):193-222.
47. Cardoso Jr CG, Gomides RS, Queiroz ACC, et al. Acute and chronic effects of aerobic and resistance exercise on ambulatory blood pressure. *CLINICS* 2010;65(3):317-25.
48. Negrão CE. Exercício físico e endotélio. In: LUZ P, LAURINDO F, CHAGAS A, eds. *Endotélio: doenças cardiovasculares*. São Paulo: Atheneu; 2005.
49. Holloszy JO. Exercise increases average longevity of female rats despite increased food intake and no growth retardation. *J Gerontol*. 1993;48(3):B97-100.
50. Goto S, Nakamura A, Radak Z, Nakamoto H, Takahashi R, Yasuda K, et al. Carbonylated proteins in aging and exercise: immunoblot approaches. *Mech Ageing Dev*. 1999;107(3):245-53.
51. Mozaffarian D, Wilson PW, Kannel WB. Beyond established and novel risk factors: lifestyle risk factors for cardiovascular disease. *Circulation*. 2008;117(23):3031-8.

52. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr.* 2000;72(2 Suppl):637S-46S.
53. Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Bello-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. *Can J Appl Physiol.* 2005;30(6):723-34.
54. Kanter M. Free radicals, exercise and antioxidant supplementation. *Proc Nutr Soc.* 1998;57(1):9-13.
55. Bruce S. Antioxidants reduce peroxy-mediated inhibition of mitochondrial transcription. *Free Radical Biology and Medicine.* 1994;16:653-660.
56. Ebbeling CB, Clarkson PM. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med.* 1989;7(4):207-34.
57. Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1987;56(3):313-6.
58. Meilhac O, Ramachandran S, Chiang K, Santanam N, Parthasarathy S. Role of arterial wall antioxidant defense in beneficial effects of exercise on atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(10):1681-8.
59. Lennon SL, Quindry JC, French JP, Kim S, Mehta JL, Powers SK. Exercise and myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion. *Acta Physiol Scand.* 2004;182(2):161-9.
60. Mergener M, Martins MR, Antunes MV, Nakamoto H, Takahashi R, Yasuda K, et al. Oxidative stress and DNA damage in older adults that do exercises regularly. *Clin Biochem.* 2009;42(16-17):1648-53.

61. Hegele RA. The pathogenesis of atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 1996;246(1-2):21-38.
62. Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? *Circulation*. 2004;109(21 Suppl 1):II27-33.
63. DeSouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, Dineno FA, Monahan KD, Tanaka H, et al. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation*. 2000;102(12):1351-7.
64. Maiorana A, O'Driscoll G, Cheetham C, Dembo L, Stanton K, Goodman C, et al. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(3):860-6.
65. Matsumoto Y, Adams V, Jacob S, et al. Regular exercise training prevents aortic valve disease in low-density lipoprotein-receptor-deficient mice. *Circulation*. 2010;121(6):736-8.
66. Watts K, Beye P, Siafarikas A, Davis EA, Jones TW, O'Driscoll G, et al. Exercise training normalizes vascular dysfunction and improves central adiposity in obese adolescents. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(10):1823-7.
67. Di Francescomarino S, Sciartilli A, Di Valerio V, et al. The effect of physical exercise on endothelial function. *Sports Med*. 2009;39(10):797-812.
68. Rinder MR, Spina RJ, Ehsani AA. Enhanced endothelium-dependent vasodilation in older endurance-trained men. *J Appl Physiol*. 2000;88(2):761-6.

69. Rauramaa R, Halonen P, Vaisanen SB, Lakka TA, Schmidt-Trucksass A, Berg A, et al. Effects of aerobic physical exercise on inflammation and atherosclerosis in men: the DNASCO Study: a six-year randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2004;140(12):1007-14.
70. Dinenna FA, Tanaka H, Monahan KD, Clevenger CM, Eskurza I, DeSouza CA, et al. Regular endurance exercise induces expansive arterial remodeling in the trained limbs of healthy men. *J Physiol.* 2001;534(Pt 1):287-95.
71. Baeuerle PA, Baltimore D. I kappa B: a specific inhibitor of the NF-kappa B transcription factor. *Science.* 1988;242(4878):540-6.
72. Wan XS, Devalaraja MN, St Clair DK. Molecular structure and organization of the human manganese superoxide dismutase gene. *DNA Cell Biol.* 1994;13(11):1127-36.
73. Husain K. Interaction of exercise training and chronic NOS inhibition on blood pressure, heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. *Pathophysiology.* 2003;10(1):47-56.
74. Niebauer J, Cooke JP. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *J Am Coll Cardiol.* 1996;28(7):1652-60.
75. Stamler JS, Lamas S, Fang FC. Nitrosylation: the prototypic redox-based signaling mechanism. *Cell.* 2001;106(6):675-83.
76. Gimbrone MA, Jr. Vascular endothelium, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Am J Pathol.* 1999;155(1):1-5.

10. Artigo original

Efeitos dos treinamentos concorrente periodizado e aeróbio não periodizado sobre parâmetros de estresse oxidativo, função endotelial e resposta imunológica em indivíduos do sexo masculino sedentários de meia idade

Resumo

O tecido endotelial é fundamental na modulação do tônus vascular, além de exercer um papel chave na proteção dos vasos e prevenir a formação da placa aterosclerótica. Um dos principais fatores causadores das disfunções do endotélio é a ação de espécies reativas de oxigênio (EROS), o que pode ser exacerbado pelo exercício de alta intensidade e por mediadores inflamatórios amplamente liberados por células do sistema imunológico sob certas circunstâncias. O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos de um programa de treinamento físico periodizado e de um não periodizado sobre a função endotelial, parâmetros de estresse oxidativo e atividade funcional de monócitos/macrófagos em indivíduos do sexo masculino sedentários de meia idade. Vinte homens sedentários com idades de 54 ± 4 anos, foram divididos em dois grupos de treinamento: Grupo treinamento concorrente (GTC), que realizou um programa de treinamento concorrente periodizado e Grupo treinamento aeróbio (GTA), que realizou treinamento aeróbio não periodizado, de intensidade moderada, ambos com duração de 12 semanas. Antes e após o treinamento, foram avaliados parâmetros de estresse oxidativo (conteúdo de GSSG e GSH em eritrócitos, relação GSSG/GSH e lipoperoxidação no plasma), função endotelial (pelo método de dilatação mediada por fluxo, FMD), perfil lipídico, proteína C reativa (PCRus), atividade funcional de monócitos/macrófagos (fagocitose de zimosan), além dos valores de força (1RM) e consumo máximo de oxigênio ($VO_{2m\acute{a}x}$). No GTC, o treinamento não foi capaz de alterar os valores de FMD ($9,09 \pm 1,17$ e $8,88 \pm 3,9\%$), mas reduziu os efeitos agudos do exercício na relação GSSG/GSH ($0,26 \pm 0,10$ vs. $0,32 \pm 0,16$, pré e pós exercício respectivamente) e nos valores de lipoperoxidação ($1,45 \pm 0,45$ e $1,59 \pm 0,49$ nmol/mg prot, respectivamente). Antes do treinamento, os valores da relação GSSG/GSH foram de $0,39 \pm 0,12$ pré e $0,66 \pm 0,20$ após o exercício ($p < 0,05$) para o GTC e $0,33 \pm 0,15$ e $0,58 \pm 0,20$ ($p < 0,05$) para o GTA, quanto aos valores de lipoperoxidação, antes e após o exercício, foram respectivamente $2,58 \pm 0,40$ e $2,89 \pm 0,35$ nmol/mg prot ($p < 0,05$) para o GTC, e $2,14 \pm 0,47$ e $2,01 \pm 0,7$ nmol/mg prot para o GTA. A primeira sessão de exercício foi suficientemente intensa a ponto de reduzir a atividade fagocítica de macrófagos ($51,75 \pm 2,6$ e $48,75 \pm 2,6$ %; $p < 0,05$), diferença que não apareceu após o treinamento. O treinamento também aumentou os valores de $VO_{2m\acute{a}x}$ (de $24,8 \pm 4,5$ para $27,7 \pm 4,8$ mL.Kg⁻¹.min⁻¹; $p < 0,05$) e todos os valores de 1RM avaliados. No GTA, o treinamento aumentou os valores de FMD ($7,2 \pm 2,57$ para $10,54 \pm 4,02\%$; $p < 0,05$), sugerindo importante influência sobre a função endotelial, enquanto que reduziu os efeitos agudos do exercício na relação GSSG/GSH e nos valores de lipoperoxidação, o que sugere redução do estresse oxidativo basal e estimulado pelo exercício. Porém, não foi capaz de alterar a resposta da

fagocitose de Zimosan pré e pós exercício nem aumentar os valores de $VO_{2\text{máx}}$ ($24,2 \pm 6,6$ para $25,9 \pm 6 \text{ mL.Kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$). Os dados sugerem que ambos os programas de treinamento são eficientes em melhorar o estado oxidativo sistêmico e as defesas antioxidantes, porém, o treinamento não periodizado de intensidade moderada parece ser mais eficiente em melhorar a resposta vascular em indivíduos com valores de FMD próximos a normalidade.

1. Introdução

Sabe-se que o endotélio vascular exerce um importante papel na regulação do tônus vascular e na manutenção da homeostase cardiovascular (FURCHGOTT RF & ZAWADZKI JV, 1980; GLASSER SP, 1996). A disfunção endotelial está diretamente relacionada à doença vascular aterosclerótica e eventos cardiovasculares agudos (CREAGER MA, 1990). De acordo com o *American Heart Association*, em 2004 nos EUA, mais de 800.000 pessoas morreram de doenças do sistema cardiovascular, que causa a morte de uma em cada três pessoas no mundo ocidental. (ROSAMOND W, et al., 2007).

A célula endotelial, além de controlar o tônus vascular, também é fundamental no controle da trombólise, remodelação vascular e na resposta inflamatória pela ativação do sistema imunológico (LUZ PL et al., 2005). A redução da função vasodilatadora endotelial ocorre precocemente na aterogênese, antes mesmo de uma evidência histológica e angiográfica de aterosclerose (YASUE H., 1990).

As espécies reativas de oxigênio (EROS) estão entre os principais fatores contribuintes para a disfunção endotelial, e conseqüentemente, para o comprometimento da complacência vascular. Dentre estes, talvez o principal responsável seja o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que reage quase que instantaneamente com o potente vasodilatador óxido nítrico (NO) para formar o potente oxidante peroxinitrito ($ONOO^-$), que tem efeito duplo promovendo a oxidação de proteínas e lipídeos, enquanto reduz a biodisponibilidade de NO (WOLIN MS, 2000).

O exercício aeróbio regular, aparentemente, pode prevenir a perda da vasodilatação dependente do endotélio, além de recuperar os níveis de vasodilatação em indivíduos de meia idade sedentários e em homens mais velhos (DESOUZA CA & TANAKA H, et al., 2000). O treinamento aeróbio melhora a função endotelial em modelos animais de hipertensão e em

pacientes com hipertensão, além de estar associado com alterações benéficas na pressão sangüínea, metabolismo lipídico, metabolismo da glicose, fatores neuro-hormonais, massa corporal e estresse de cisalhamento, bem como melhora nas defesas antioxidantes (HIGASHI, Y., 2004). No entanto, a intensidade mais adequada para o aparecimento de tais adaptações ainda é discutida. A associação simultânea dos treinos aeróbio e de força numa mesma (treinamento concorrente) parece também normalizar as respostas vasodilatadoras dependentes do endotélio em indivíduos com disfunção (WATTS et al., 2004).

Com base nos pressupostos acima citados, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de dois diferentes tipos de treinamento físico, com duração de doze semanas, representando dois diferentes estímulos metabólicos, sobre a função endotelial, parâmetros de estresse oxidativo, atividade funcional de monócitos/macrófagos circulantes, bem como perfil lipídico, potência aeróbia e força máxima de vinte homens de meia idade sedentários.

2. Métodos

2.1. *Desenho do estudo:* Foram estudados 20 homens, com idades de 54 ± 4 anos, não envolvidos com nenhum programa de treinamento físico regular, divididos em dois grupos. Metade participou de um programa de treinamento concorrente periodizado (GTC) enquanto a outra metade participou de um programa de treinamento aeróbio não periodizado (GTA). Antes do início do treinamento, os indivíduos realizaram avaliações de força máxima (1RM) e de potência aeróbia máxima ($VO_{2m\acute{a}x}$), função endotelial, composição corporal e coletas de sangue para avaliação do perfil lipídico, glicemia e marcadores inflamatórios. No primeiro dia de treinamento, antes e imediatamente após a sessão de exercício, foram coletados 15 ml de sangue para avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo e atividade funcional de monócitos/macrófagos em ambos os grupos. Após 12 semanas de treinamento, as mesmas avaliações foram repetidas em ambos os grupos.

2.2. Programa de treinamento

2.3. *Grupo Treinamento Concorrente (GTC)*: Para a elaboração do programa foi levado em consideração os resultados apresentados na revisão de OTTO RM & CARPINELLI RN, (1998), que demonstrou não haver diferenças, para indivíduos sedentários, do ponto de vista de ganho de força e massa muscular, entre a realização de uma ou mais séries de cada exercício. O programa de treinamento foi composto de uma fase inicial, destinada à realização de 20 minutos de exercício aeróbio em cicloergômetro, em seguida foram realizados os seguintes exercícios de força: supino reto, supino inclinado, elevação lateral, rosca bíceps direta, puxada dorsal, puxada frontal costas, pressão de pernas, extensão de joelhos e flexão de joelhos. Foram realizadas três sessões semanais, com duração média de 45 minutos. Nas semanas 1 e 2 a intensidade de cada exercício foi de 15RMs, sendo esta de 12RMs, 10RMs e 8RMs entre as semanas 3-4, 5-8 e 9-12 respectivamente. A intensidade do treinamento aeróbio foi determinada pelo percentual da frequência cardíaca de reserva, determinada pelo método de Karvonen (KARVONEN MJ et al., 1957), nas semanas 1 e 2 a intensidade do treinamento aeróbio foi de 65% da frequência de reserva, sendo de 70%, 75% e 80% entre as semanas 3-4, 5-8 e 9-12 respectivamente.

2.4. *Grupo Treinamento Aeróbio não periodizado (GTA)*: O treinamento aeróbio foi realizado a uma intensidade constante durante as 12 semanas de treinamento. Os indivíduos realizaram três sessões semanais de 30 minutos de exercício em cicloergômetro a uma intensidade correspondente a 65% da frequência cardíaca de reserva. Os indivíduos passaram pelas mesmas avaliações, nos mesmos períodos que o GTC.

2.5. *Avaliação funcional*: Foi realizada ergoespirometria no protocolo de Rampa em cicloergômetro no qual a carga de trabalho aumentou em uma taxa constante de 25Watts por minuto até a exaustão, de acordo com a proposição de DEKERLE J, et al (2003). Para determinação dos valores de VO_2 e VCO_2 , foi utilizado um analisador de gases

computadorizado (*MedGraphics Cardiorespiratory Diagnostic Systems*, modelo CPX-D).

2.6. *Avaliação de força máxima*: Foi realizado teste de uma repetição máxima (1RM), que teve como objetivo avaliar a máxima carga deslocada em toda a amplitude de movimento nos exercícios supino reto, puxada dorsal e extensão de joelho (FLECK SJ & KRAEMER WJ, 1999). Os valores de 1 RM foram determinados por tentativa e erro, tendo sido utilizados os fatores de correção de carga propostos por LOMBARDI (1989). O teste foi realizado antes da primeira, 6^a e após a 12^a sessões de treinamento.

2.7. *Avaliação antropométrica*: a antropometria foi realizada utilizando balança e estadiômetro da marca Filizola, plicômetro (Harpender), sendo as marcações dos locais e a técnica de das dobras seguiu os padrões da The International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK, 2006). Os cálculos da composição corporal foram realizados usando protocolo para público geral de DURNIN & WOMERSLEY (1974), que levam em consideração as variáveis: massa corporal, dobras do tríceps, bíceps, subescapular e crista ilíaca.

2.8. *Coletas de sangue*: Foram coletados 15 ml de sangue por um profissional capacitado e habilitado, antes e imediatamente após o término do protocolo de treinamento dos dias de avaliação. O sangue foi coletado em veia da região antecubital.

2.9. *Relação GSSG/GSH*: As quantidades de glutathiona (GSH) e dissulfeto de glutathiona (GSSG) intracelulares, bem como a relação entre as concentrações desses dois metabólitos fornecem o índice do estado redox intracelular (AKERBOOM TP & SIES H, 1981). Por isso, foram realizadas medidas de GSH e GSSG, nos eritrócitos obtidos do sangue periférico dos indivíduos treinados antes e logo após a primeira e última sessões de treinamento, uma vez que estas células percorrem todos os territórios do organismo. Para estas determinações, foi utilizada uma técnica adaptada de KOLBERG et al, (2006), para determinação em leitora de microplacas a 415 nm. Eritrócitos coletados de amostras de

sangue periférico foram imediatamente rompidos em 4 volumes de ácido metafosfórico 5% (m/v) para análise cinético-espectrofotométrica pelo método de reciclagem com o ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] (DTNB) e GSSG redutase (GR) de ANDERSON ME, (1985). A acidificação previne a auto-oxidação da GSH que ocorre rapidamente em pH superior a 7,0 (AKERBOOM TP & SIES H, 1981; ANDERSON ME, 1985). Primeiramente foi determinado o conteúdo de glutathiona "total" (GSH+ GSSG) medido em equivalentes de GSH pelo método da reciclagem com DTNB que leva à oxidação estequiométrica da GSH em GSSG com formação do ácido 5-tio-2-nitrobenzóico (TNB) e posterior restituição da GSH pela redução altamente específica com GSSG redutase (GR, EC 1.6.4.2) na presença de NADPH. A taxa de formação de TNB, proporcional à soma inicial de GSH e GSSG, foi, então, monitorada a 412 nm ($\epsilon_{\text{TNB}} = 13,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Inicialmente foram adicionados 10 μL de amostra (em MPA 5%), 75 μL de DTNB 14,1 mM em tampão fosfato de sódio 143 mM (pH 7,5) e 10 μL de NADPH 1,7 mM em NaHCO_3 0,5%. A reação tem início com a adição de 10 μL de GR. Sob agitação, as amostras foram analisadas espectrofotometricamente a 415 nm por cerca de 3 min num volume final de 105 μL em microplacas de 96 wells a 37°C, em leitora termostaticada (Bio-Rad modelo Benchmark, USA) com aquisição direta e processamento cinético automático. Para determinação do conteúdo de GSSG, alíquotas de 100 μL das mesmas amostras ensaiadas para GSH "total" foram retiradas para conjugação da GSH presente com N-etilmaleimida (NEM, Fluka) segundo metodologia descrita em AKERBOOM TP & SIES H, (1981). Adicionou-se, então, 35 μL de NEM 200 mM diretamente às amostras dissolvidas em MPA 5%. Imediatamente após, a mistura foi neutralizada cuidadosamente sob agitação, até pH 5,5 pela adição de 20 μL de KOH 2M em tampão de ácido piperazina-N,N'-bis-(etanossulfônico) (PIPES, Boehringer, pKa= 6,8 a 25°C, faixa de trabalho de 6,1 a 7,5) 0,3 M. A retirada do excesso de NEM, que, em concentrações tão baixas quanto 10 μM inibe o processo de dosagem da GSSG por reciclagem em até 30%, foi efetuado por lavagem com 500 μL de acetato de etila 3 vezes, sendo que o excesso

de solvente foi evaporado em concentrador tipo SpeedVac (UNIEQUIPO) e por passagem em corrente de nitrogênio. Posteriormente, cerca de 10 μL de amostra foram ensaiados pelo método da reciclagem, como descrito para a GSH. A diferença entre os valores obtidos para glutathiona "total" e GSSG fornece os valores dos conteúdos de GSH procurados:

$$[\text{GSH}] = \text{GSH total} - 2[\text{GSSG}]$$

2.10. *Lipoperoxidação, Xilenol Laranja*: A oxidação de Fe^{2+} a Fe^{3+} na presença de lipoperóxidos e formação de complexos de Fe^{3+} com xilenol laranja (*Xylenol orange*, XO) foi mensurada segundo a técnica descrita originalmente por JIANG ZY, et al, (1991) e adaptada para plasma e soro por ARAB K. & STEGHENS JP, 2004. O plasma foi armazenado imediatamente após ter sido adicionado hidroxibutiltolueno (BHT) em uma concentração final de 4 mM. As amostras foram colocadas imediatamente em gelo, a fim de evitar a ocorrência de interferentes. As amostras de plasma foram dosadas diretamente, após a determinação da concentração de proteínas (BRADFORD MM, 1976). Foram realizadas diluições seriadas para a correta análise dos ensaios. O reagente de trabalho (RT-XO) para o ensaio foi composto por MeOH (metanol) 90% (v/v), Xilenol laranja (2mM, ácido *o*-cresolsulfonoftaleína-3,3'-bis-metilimino-diacético, sal tetrassódico), ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1 M, BHT 40 mM, e $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (sulfato ferroso amoniacal) 10 mM. As amostras foram incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente. Após esse período, 10 μL de amostra foram pipetadas em placas com 96 wells com o reagente de trabalho (90 μL), a placa foi incubada por mais 30 minutos a temperatura ambiente. Para o branco utilizou-se o RT-XO. A seguir, foi realizada a leitura a 570 nm, em ELISA.

2.11. *Dilatação endotélio-dependente, FMD*: a avaliação da função endotelial arterial não invasiva foi realizada através de um ultra-som da artéria braquial, realizado em uma sala climatizada com temperatura de 21 - 24°C no Instituto de Cardiologia de Porto Alegre (IC), o equipamento utilizado foi um EnVisor Series (Philips Ultrasound - Bothell, WA - USA) com transdutor linear de 7-12MHz e software para aquisição de

imagens em modo bi-dimensional com Doppler colorido e sinal de ECG. As imagens, com traçado eletrocardiográfico simultâneo, foram gravadas em DVD. Para minimizar os erros operacionais, tanto o transdutor quanto o braço foram posicionados e mantidos na mesma posição durante o procedimento. Imagens basais foram gravadas e um manguito de pressão foi colocado no antebraço e inflado até 50mmHg acima da pressão sistólica por no mínimo 5 minutos, após, o manguito era retirado e obtidas imagens longitudinais das paredes da artéria braquial, permitindo uma avaliação da capacidade de vasodilatação dependente do endotélio, de acordo com as especificações de CORRETTI MC, et al (2002). A avaliação foi realizada antes da primeira, e após a 12^a semana de treinamento em ambos os grupos.

2.12. *Fagocitose de zimosan*: 50 mg de zimosan (*Saccharomyces cerevisiae*, Sigma) foram diluídos em 100 mL de PBS, sendo então fervidos por 30 minutos, com agitação a cada 5 minutos, lavado por 3 vezes, por 15 minutos cada 1000 x g à temperatura ambiente. O sobrenadante é descartado e o precipitado reservado e ressuspenso com PBS numa concentração de 40 vezes a concentração inicial. Para opsonização com o complemento (presente no soro do próprio indivíduo), 0,5 mL de suspensão de partículas de zimosan (a 20 mg/mL) foram misturados em partes iguais com soro homólogo e incubado por 30 minutos a 37°C em banho-maria com agitação; foi realizada centrifugação por 10 segundos a 15.000x g. O precipitado foi lavado por 3 vezes com PBS e ressuspenso em meio de HBSS (Hanks' balanced salt solution) contendo albumina sérica (BSA) deslipidada a 2% m/v (20 mg/mL finais em termos de BSA). Para o ensaio de fagocitose, as células (5×10^5 monócitos/macrófagos em 2 mL de suspensão fresca) foram plaqueadas sobre lamínulas de vidro para microscópio (20 x 20 mm) e deixadas por 30 min em estufa incubadora a 37 °C em meio RPMI1640 contendo soro fetal bovino (SFB) a 10% (v/v) para aderirem ao vidro. Após a adesão dos monócitos/macrófagos, o meio foi aspirado e substituído por 1 mL de HBSS pré-aquecido contendo BSA deslipidada a 2% (m/v) para iniciar o ensaio da fagocitose. Adicionou-se, então, a

preparação de zimosan opsonizado num volume equivalente a 10% do volume de meio presente nas placas que foi misturada com o meio contendo as células. O conjunto foi incubado por 30 min a 37 °C. A fagocitose foi interrompida colocando-se as placas de cultura a uma temperatura de 5 a 8°C por 10 min e, depois, contando-se as partículas fagocitadas. A visualização das partículas fagocitadas foi realizada diretamente nas placas em microscópio óptico com aumento de 400 X sem nenhum corante. Foram realizadas contagens do número total de células que fagocitaram alguma partícula de zimosan sobre um total de 100 células observadas aleatoriamente por campo (NEWMAN SL & MIKUS LK, 1985; WALTER RJ, et al., 1980; SANGUEDOLCE MV, et al., 1992; CAPO, C. et al., 1998; KRONER EE, et al., 1981).

2.13. *Parâmetros bioquímicos de caracterização da amostra:* foram avaliados antes e após o treinamento, nos grupos 1 e 2, os valores de proteína C reativa ultra sensível (PCRus), glicemia, triglicerídeos, colesterol total (CT), lipoproteínas de alta densidade (HDL) e a relação CT/HDL.

2.14. *Tratamento estatístico:* para comparação das médias intra-grupos foi utilizado teste T pareado. Para comparação entre os grupos foi utilizado teste T para amostras independentes. Para comparação do percentual de alteração ($\Delta\%$) após o treinamento nos parâmetros de 1RM e VO₂máx foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. O índice de significância adotado foi de 0,05%.

3. Resultados

3.1. *Caracterização da amostra (Tabela 1):* no GTC, os valores de massa corporal total ($90,17 \pm 13,27$ e $87,64 \pm 13,5$ kg) e percentual de gordura ($29,67 \pm 3,02$ e $28,16 \pm 3,53$ %) apresentaram uma redução significativa quando comparadas com os valores basais ($p < 0,05$), o contrário acontecendo com a massa corporal magra ($63,34 \pm 7,9$ e $62,99 \pm 7,09$ kg), que não apresentou alterações significativas. No GTA, nenhum dos parâmetros avaliados apresentou diferença estatisticamente significativa. Os valores basais não apresentaram diferenças entre os grupos.

	Total Body Weight (kg)		Fat Percentage (%)		Lean Body Mass (kg)	
	Before	After	Before	After	Before	After
CTG(n=10)	90.17 ± 13.27	87.64 ± 13.5*	29.67 ± 3.02	28.16 ± 3.53*	63.34 ± 7.9	62.99 ± 7.09
ATG(n=10)	91.99 ± 18.59	91.6 ± 18.02	26.85 ± 4.74	26.22 ± 9.8	66.2 ± 9.81	66.2 ± 9.7

Table 1: group characteristics, before and after twelve weeks of training in appraised groups; *p < 0.05.

3.2. Parâmetros bioquímicos de caracterização da amostra (Tabela 2)

3.2.1. GTC: os valores de PCRus foram de $24,8 \pm 4,5$ e $27,7 \pm 4,8$ mg/L ($p < 0,05$), pré e pós treinamento respectivamente; a glicemia também mostrou uma redução significativa após o treinamento, com valores de $113,1 \pm 29,5$ e $106 \pm 34,5$ mg/dL ($p < 0,05$); comportamento semelhante foi verificado nos valores de colesterol total (CT), $231,8 \pm 48,8$ e $217,4 \pm 45$ mg/dL, porém sem diferença estatística; os valores de HDL, bem como a relação CT/HDL, também mostraram uma redução significativa após o treinamento, respectivamente $38,6 \pm 9$ e $42,1 \pm 9$ mg/dL ($p < 0,05$) e $5,9 \pm 1$ e $5,1 \pm 1$ ($p < 0,05$); os valores de triglicerídeos também demonstraram uma tendência a redução após o treinamento, $179,1 \pm 62$ e $186,7 \pm 69,9$ mg/dL.

3.2.2. GTA: os valores de PCRus, mostraram uma tendência a redução após o treinamento, $2,81 \pm 1,31$ e $2,19 \pm 1,25$ mg/L; a glicemia apresentou uma redução significativa, com valores de $110,6 \pm 25,8$ e $97,7 \pm 30$ mg/dL ($p < 0,05$), pré e pós treinamento respectivamente; os valores de CT também apresentaram uma tendência a redução após o treinamento, $193,9 \pm 29,3$ e $181,9 \pm 37,1$ mg/dL; assim como os valores de HDL, que também não apresentaram diferença significativa, $41,8 \pm 5,9$ mg/dL antes do treinamento contra $43,8 \pm 6,5$ mg/dL após; a relação CT/HDL apresentou uma redução significativa, $4,7 \pm 1$ e $4,2 \pm 1$ ($p < 0,05$), antes e após o treinamento respectivamente; os valores de triglicerídeos não apresentaram diferença significativa, $166,7 \pm 104$ mg/dL antes do treinamento,

contra $156,2 \pm 102,5$ mg/ dL após. Os valores basais não apresentaram diferenças entre os grupos.

	CTG (n=10)		ATG (n=10)	
	Before	After	Before	After
Hs-CRP (mg/L)	1.98 ± 1.31	1.66 ± 1.15	2.81 ± 1.31	2.19 ± 1.25
Glycemia (mg/dL)	113.1 ± 29.5	$106 \pm 34.5^*$	110.6 ± 25.8	$97.7 \pm 30^*$
Cholesterol (mg/dL)	231.8 ± 48.8	217.4 ± 45	193.9 ± 29.3	181.9 ± 37.1
HDL (mg/dL)	38.6 ± 9	$42.1 \pm 9^*$	41.8 ± 5.9	43 ± 3.5
CT/HDL ratio	5.9 ± 1	$5.1 \pm 1^*$	4.7 ± 1	$4.2 \pm 1^*$
Tryglicerides (mg/dL)	179.1 ± 62	186.7 ± 69.9	166.7 ± 104	156.2 ± 102.5

Table 2: blood biochemistry from both appraised groups before and after twelve weeks of training. High-sensitivity C reactive protein (Hs-CRP); High density lipoprotein (HDL); Total cholesterol (CT); * $p < 0.05$.

3.3. *Função endotelial, dilatação mediada por fluxo (FMD) (Figura 1):* o percentual de dilatação mediada por fluxo nos grupos avaliados antes e após as 12 semanas de treinamento foram respectivamente $9,09 \pm 1,17$ e $8,88 \pm 3,9\%$ para o GTC e $7,2 \pm 2,57$ e $10,54 \pm 4,02\%$ ($p < 0,05$) para o GTA. Os valores basais não são diferentes entre os grupos.

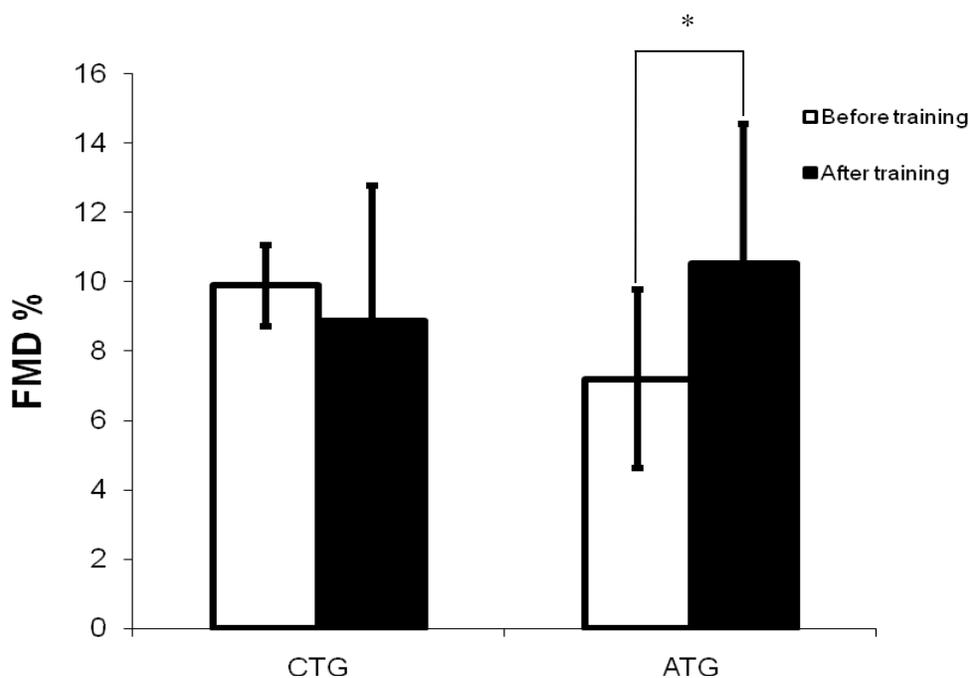


Figure 1: flow-mediated dilatation percentage (FMD %), before and after training in CTG and ATG; * $p < 0.05$.

3.4. Estresse oxidativo

3.4.1. *Relação GSSG/GSH* (Figura 2): os valores basais da relação GSSG/GSH antes e após o exercício nos grupos avaliados foram respectivamente $0,39 \pm 0,12$ e $0,66 \pm 0,20$ u.a. ($p < 0,05$) para o GTC e $0,33 \pm 0,15$ e $0,58 \pm 0,20$ u.a. ($p < 0,05$) para o GTA. Após 12 semanas de treinamento (Figura 3), os valores da relação GSSG/GSH foram de $0,26 \pm 0,10$ u.a. antes do exercício e $0,32 \pm 0,16$ u.a. após, no GTC, e $0,29 \pm 0,14$ u.a. antes contra $0,36 \pm 0,14$ u.a. após o exercício no GTA. Os valores basais não apresentaram diferenças entre os grupos.

3.4.2. *GSSG e GSH reduzida* (Figura 3): no GTC, os valores de GSSG antes e após o treinamento foram de $534 \pm 165,02$ e $392 \pm 75,75$ nmol/ml ($p < 0,05$) respectivamente. O GTA apresentou valores de $426 \pm 135,41$ nmol/ml antes do treinamento e $391 \pm 132,38$ nmol/ml após 12 semanas de treinamento. O valores de glutathiona reduzida

(GSHred), antes e após o treinamento, foram respectivamente $1427 \pm 387,84$ e $1625 \pm 417,01$ nmol/ml para o GTC, e $1421 \pm 543,12$ e $1505 \pm 660,79$ nmol/ml para o GTA.

3.4.3. *Dosagem de lipoperóxidos plasmáticos, xilenol laranja* (figura 4): os valores de lipoperóxidos plasmáticos, pré treinamento, nos grupos avaliados, antes e após o exercício, foram respectivamente $2,58 \pm 0,40$ e $2,89 \pm 0,35$ nmol/mg prot ($p < 0,05$) para o GTC, e $2,14 \pm 0,47$ e $2,01 \pm 0,7$ nmol/mg prot para o GTA. Após o treinamento, o GTC apresentou valores de $1,45 \pm 0,45$ e $1,59 \pm 0,49$ nmol/mg prot, antes e após o exercício respectivamente, enquanto que o GTA, apresentou valores de $1,20 \pm 0,26$ e $1,33 \pm 0,47$ nmol/mg prot. Os valores basais não apresentaram diferenças entre os grupos. Os valores pré exercício de GTC e GTA apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) quando comparados os valores antes e após o período de treinamento.

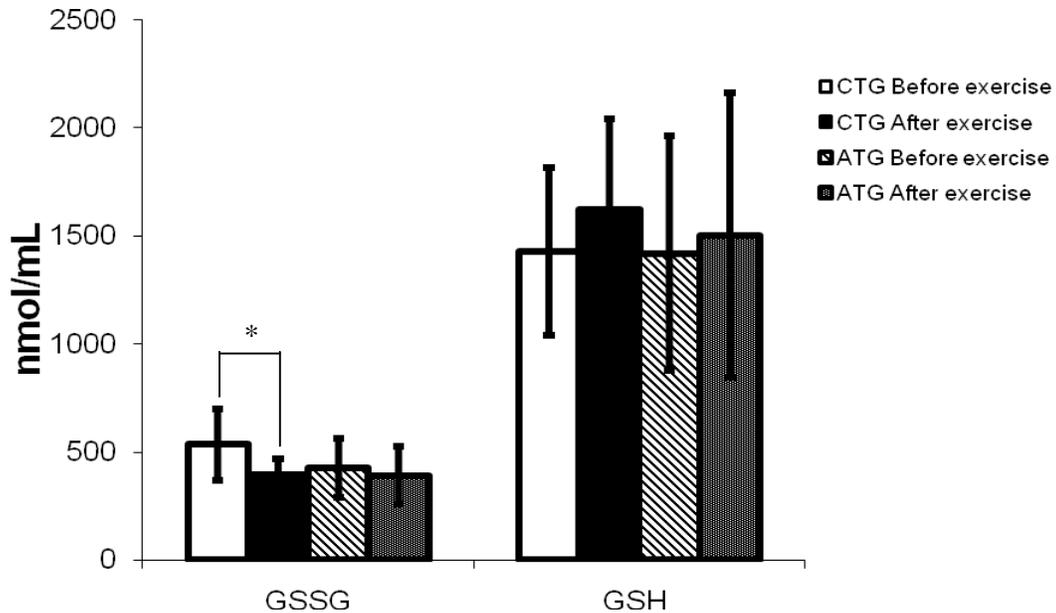


Figure 2: Glutathione disulfide (GSSG) and reduced glutathione (GSH) values, before and after training in CTG and ATG; * $p < 0.05$.

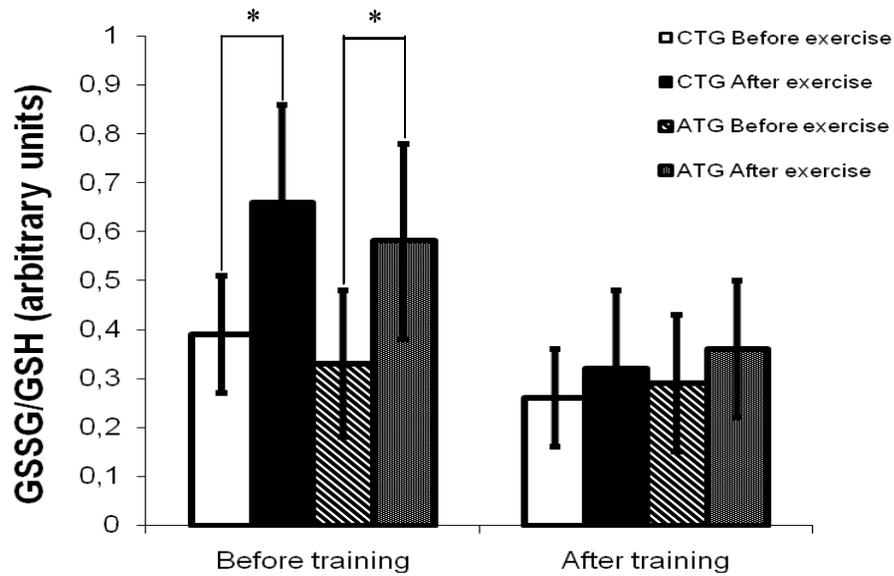


Figure 3: Glutathione disulfide, glutathione reduced ratio (GSSG/GSH) values, before and immediately after exercise, before and after training programs in CTG and ATG; * $p < 0.05$.

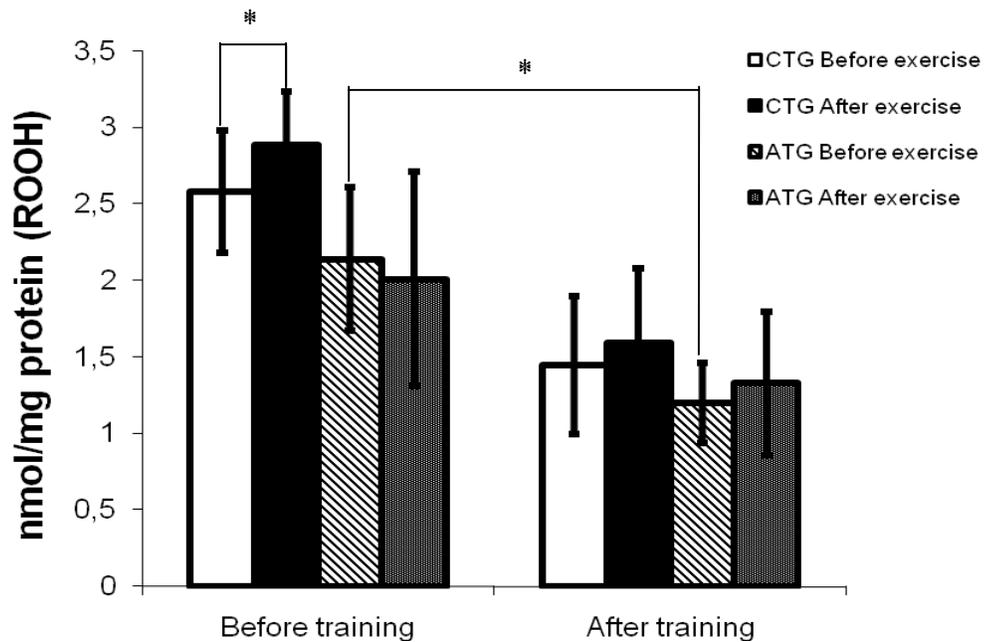


Figure 4: plasmatic lipoperixides (ROOH) values, before and immediately after exercise in CTG and ATG, before and after training; * $p < 0.05$.

3.5. Fagocitose de zimosan (Figura 5): o GTC, antes do treinamento, apresentou, antes e após o exercício, respectivamente $51,75 \pm 2,6$ e $48,75 \pm 2,6$ % ($p < 0,05$) de macrófagos com partículas fagocitadas de zimosan, enquanto que o GTA, apresentou, antes e após o exercício, valores de $50,22 \pm 3,46$ e $51,67 \pm 3,16$ %. Após o treinamento, o GTC, apresentou valores de $55,67 \pm 5,7$ e $55 \pm 4,64$ %, antes e após o exercício, respectivamente, enquanto que o GTA, apresentou valores de $53,7 \pm 7,2$ e $53,1 \pm 4,01$ %. Os valores basais não apresentaram diferenças entre os grupos.

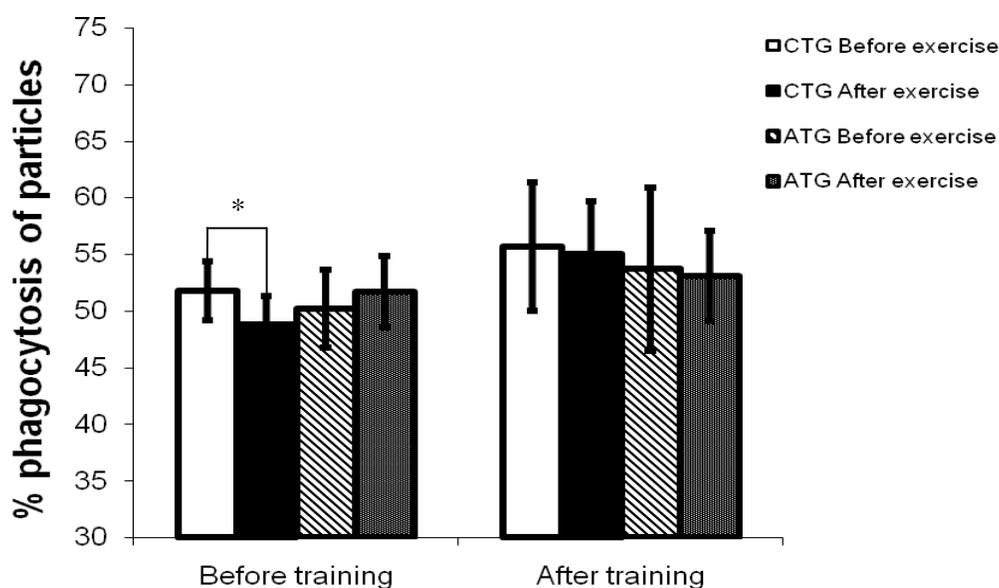


Figure 5: macrophage phagocytic capacity (zymosan phagocytosis), total percentage of macrophages with phagocytosed particles, before and immediately after exercise in CTG and ATG, before and after training; * $p < 0.05$.

3.5. Avaliação da potência aeróbia e força máxima (1RM) (Tabela 2):

3.5.1. *Potência aeróbia máxima* ($VO_{2máx}$): o GTC apresentou um aumento significativo dos valores de consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) após 12 semanas de treinamento ($27,7 \pm 4,8$ mL.Kg⁻¹.min⁻¹) quando comparados aos valores basais ($24,8 \pm 4,5$ mL.Kg⁻¹.min⁻¹) ($p < 0,05$), diferença que não foi encontrada no GTA ($24,2 \pm 6,6$ e $25,9 \pm 6$ mL.Kg⁻¹.min⁻¹). Além disso, o percentual de alteração ($\Delta\%$) no $VO_{2máx}$ após o treinamento no GTC foi maior que no GTA (13,6

contra 7,4 respectivamente) ($p < 0,05$). Os valores basais não são diferentes entre os grupos.

3.5.2. *Avaliação de força máxima (1RM)*: o GTC apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de 1RM nos exercícios supino, extensão de joelhos e puxada dorsal, respectivamente, 12 semanas de treinamento ($60,2 \pm 15,7$ Kg, $109,3 \pm 15,6$ Kg e $71 \pm 9,2$ Kg), quando comparados com os valores de 6 semanas ($55,4 \pm 13,7$ Kg, $101 \pm 14,4$ Kg e $66 \pm 9,5$ Kg) e com os valores basais ($50,6 \pm 11,8$ Kg, $94,8 \pm 12,8$ Kg e $61 \pm 7,2$ Kg). Os valores basais dos exercícios extensão de joelhos e puxada dorsal no GTA também apresentaram diferença significativa quando comparados com os valores de 12 semanas ($p < 0,05$). O percentual de alteração ($\Delta\%$) após o treinamento foi significativamente maior no GTC, quando comparado com o GTA, nos três exercícios avaliados ($p < 0,05$). Os valores basais não apresentaram diferenças entre os grupos.

	CTG (n=10)				ATG (n=10)			
	Basal	6 weeks	12 weeks	Δ%	Basal	6 weeks	12 weeks	Δ%
VO_{2max} (mL.Kg⁻¹.min⁻¹)	24.8 ± 4.5		27.7 ± 4.8†	13.6**	24.2 ± 6.6		25.9 ± 6	7.4
Supine Chest Press (Kg)	50.6 ± 11.8	55.4 ± 13.7*†	60.2 ± 15.7*†	13.3**	48.4 ± 12.3	48.8 ± 12.3	50.8 ± 13.1	5.7
Knee extension (Kg)	94.8 ± 12.8	101 ± 14.4*†	109.3 ± 15.6*†	14.4**	89.2 ± 11.3	91.2 ± 12.9	93.2 ± 12.6†	5.11
Lat pulldown (Kg)	61 ± 7.2	66 ± 9.5*†	71 ± 9.2*†	14.33**	61.4 ± 9.6	64.4 ± 11.8†	64.3 ± 9.6†	6.1

Table 3: Data from *Aerobic* power (VO_{2max}) and 1-repetition maximum test (1-RM) data in supine chest press, knee extension and lat pulldown exercises; * p < 0,05, comparing 12 and 6 weeks data; † p < 0.05, referring to basal values; ** p < 0.05, values referring to delta percentage of alteration between groups after training (Δ%).

1. Discussão

Muitos fatores de risco estabelecidos para doença arterial coronariana, incluindo dislipidemia, hipertensão, diabetes, obesidade e inatividade física, aumentam o risco de desenvolvimento de disfunção endotelial. A inatividade física e a reduzida capacidade de realizar exercícios são preditores de doença cardiovascular, independentemente de fatores de risco convencionais, estando associados com disfunção endotelial e resistência à insulina (VAN GAAL LF, et al., 2006; PERKINS GM et al, 2009; TEEFFELEN WM et al., 2009). Sabe-se que disfunção endotelial está diretamente relacionada à doença vascular aterosclerótica e eventos cardiovasculares agudos (CREAGER MA, 1990).

Este trabalho sugere que indivíduos sedentários de meia idade apresentam aumentados níveis de lipoperoxidação plasmática além de um desbalanço na relação GSSG/GSH o que pode ser avaliado nas Fig. 2-4. Esse resultado parece ser devido ao aumento na oxidação de GSH em resposta ao exercício, aumentando os níveis sistêmicos (eritrocitários) de GSSG após os dois protocolos de exercício adotados, resultados que estão de acordo com o estudo realizado por GOLDFARB AH, et al., (2005), em que foram utilizados exercícios excêntricos, e também com o trabalho de SVENSSON M, et al., (2002), com a utilização de exercícios aeróbios e anaeróbios. Entretanto, após 12 semanas de treinamento físico concorrente periodizado (GTC) ou aeróbio moderado não periodizado (GTA), as diferenças após uma sessão de exercício exatamente igual a primeira (antes do treinamento) parecem desaparecer, isto é, as duas formas de treinamento parecem ter causado um efeito positivo sobre o estado redox melhorando o potencial redutor eritrocitário. Este dado é importante se considerarmos que, dentre os principais responsáveis por angiopatias e disfunção endotelial, está o desbalanço entre antioxidantes e pró oxidantes, ou seja, a ação direta das espécies reativas de oxigênio (EROS) sobre o endotélio e células musculares lisas vasculares, conseqüentemente resultando em um comprometimento da complacência vascular (KEANEY JF & LOSCALZO J, 1999; HIGASHI Y, 2004). Como mostrado no trabalho realizado por VIDER J, et al (2001), mesmo indivíduos jovens e bem treinados, imediatamente após o exercício

extenuante, apresentam aumentada lipoperoxidação e aumentados valores de GSH total, o que está relacionado ao aumento na produção de GSSG e/ou uma aumentada exportação de GSH pelo fígado (LEW J. & QUINTANILHA A, 1985) em uma tentativa minimizar os potenciais danos característicos da aumentada produção de EROS.

O efeito protetor do treinamento físico contra a ação das EROS, demonstrado no presente estudo, também está de acordo com os resultados reportados LENNON SL, et al., (2004), que compararam o efeito protetor do exercício moderado com o de alta intensidade, verificando que ambos são capazes de proteger contra a isquemia-reperfusão através do aumento da resposta antioxidante. Dando suporte a hipótese protetora do treinamento, está o trabalho realizado por AGUILO´ A, et al, (2003), que mostrou que atletas altamente treinados apresentam melhor *status* antioxidante e perfil lipídico que atletas amadores, antes e após o exercício. Além de atletas, o recente trabalho de NOJIMA H, et al., (2008) realizado com indivíduos sedentários diabéticos, que participaram de dois diferentes programas de treinamento físico, por 12 meses, um apenas com trabalhos aeróbios e outro com exercícios de força junto com o treinamento aeróbio, mostrou que ambos os programas foram capazes de diminuir os danos oxidativos ao DNA (mensuração dos níveis urinários de 8-hidróxi-2-deoxiguanosina; 8-OHdG) e melhorar o controle glicêmico. Além disso, os dados de HUSAIN K (2003) sugerem que o treinamento diminui os danos oxidativos causados pela inibição da NOS (induzido por L-NAME) por aumentar os níveis de NO, a razão GSH/GSSG, aumentar a atividade das enzimas antioxidantes e diminuir a pressão sanguínea. Resultados contrários foram encontrados por MARGONIS K, et al., (2007), que encontraram redução nos valores de GSH e aumento nos valores de GSSG. Porém, neste trabalho a carga de treinamento tinha como objetivo induzir overtraining, aceitando os parâmetros de estresse oxidativo como ferramenta de diagnóstico de excesso de treinamento.

De forma aguda, sabe-se que a partir de determinada intensidade e duração, dependendo do nível de treinamento dos indivíduos, o exercício pode causar estresse oxidativo. Além disso, a ativação dos sistemas antioxidantes por longo período e repetidas vezes, bem como a diminuição

na produção de agentes oxidantes (por exemplo, por diminuição de expressão e atividade de NADPH oxidase ou diminuição do desacoplamento de enzimas da cadeia respiratória) após o exercício prolongado, pode exercer efeitos protetores sobre os sistemas vasculares (revisado por FEARON IM & FAUX SP, 2009; FUKAI T, et al., 2000). Outra importante forma de proteção, conferida pelo treinamento contra o estresse oxidativo é a rota do fator nuclear kappa B (NF- κ B). O NF- κ B é um fator de transcrição que reside de forma inativa no citossol, por estar ligada a uma proteína inibitória de sua ação, o I κ B (BAEUERLE PA & BALTIMORE D, 1988). A ligação direta de EROS com o NF- κ B é capaz de translocá-lo do núcleo, ligando-se a uma série de genes específicos e aumentando a expressão de enzimas antioxidantes como a SOD (WAN XS, et al., 1994).

Sabe-se que a dilatação mediada por fluxo (FMD) é um método de avaliação eficiente e amplamente utilizado da capacidade de modulação do tônus vascular pelo endotélio (DEANFIELD JE, et al., 2007; CORRETTI MC, et al., 2002). Nossos dados mostram uma significativa melhora no percentual de FMD após 12 semanas de treinamento aeróbio de intensidade moderada, o que não foi encontrado pelo grupo que realizou treinamento concorrente. Aparentemente, indivíduos com valores normais de FMD não demonstram melhora na resposta à hiperemia reativa após o treinamento de força, talvez pelo aumento da sobrecarga na parede vascular que é resultado dos aumentados níveis pressóricos durante exercícios desta natureza. No trabalho realizado por MAIORANA A, et al., (2001) foi verificado se o treinamento físico seria capaz de melhorar a função endotelial sistemicamente em pacientes com diabetes tipo II, com idades de 52 ± 2 anos. Os indivíduos foram avaliados quanto a sua função endotelial através da utilização de ultrassonografia dos vasos de condução (FMD), após 8 semanas de treinamento concorrente, envolvendo treinamento aeróbio e anaeróbio, com incremento progressivo de cargas. A intensidade do treinamento de força situou-se entre 55 até 65% de 1RM pré treinamento. Já a intensidade do treinamento aeróbio ficou entre 70 até 85% da frequência cardíaca de pico. Foi encontrada uma melhora significativa na FMD em resposta à hiperemia reativa, mostrando claramente uma melhora na função

endotelial de indivíduos com diabetes tipo II. Porém, diferentemente do presente estudo, os valores iniciais de FMD da população do estudo de MAIORANA eram consideravelmente mais baixos ($1.7 \pm 0.5\%$), logo, é de se esperar que a adaptação nesses indivíduos seja maior do que em indivíduos que possuam valores de FMD normais ou próximos da normalidade. Como demonstrado por WATTS K, et al., (2004), que avaliaram o efeito de 8 semanas de treinamento em circuito (aeróbio e força) de baixa intensidade, sobre anormalidades na função endotelial de 19 indivíduos obesos jovens, também pelo método de FMD, o treinamento de circuito foi capaz de normalizar a FMD dos indivíduos quando comparados com os controles que não apresentavam valores de FMD característicos de disfunção endotelial. O que também foi demonstrado no trabalho de VONA M, et al., (2009), em que indivíduos cardiopatas que realizaram treinamento concorrente, de força ou aeróbio, melhoraram os valores de FMD, porém, assim como no estudo de MAIORANA, todos os indivíduos apresentavam valores basais de FMD abaixo de 4,5%.

Os efeitos do treinamento na função endotelial parecem ser devidos ao impacto generalizado de variáveis hemodinâmicas agindo através de um estresse de cisalhamento aumentado na parede vascular (NEIBAUER J & COOKE JP, 1996). Em situações fisiológicas, o NO tem papel importante na manutenção da parede vascular em um estado quiescente por inibir inflamação, proliferação celular e trombose. Isso se deve por uma nitrosilação dos resíduos de cisteína de diversas proteínas (NF- κ B, proteínas controladoras de ciclo celular), reduzindo suas atividades biológicas (STAMLER JS, et al., 2001). O estresse de cisalhamento laminar parece ser provavelmente o principal fator que mantém este fenótipo quiescente do endotélio, modulado pelo NO (GIMBRONE MA Jr, 1999). Os dois tipos de treinamento empregados no presente estudo, embora de forma não significativa, provavelmente devido a um grande variabilidade dos valores, foi capaz de mostrar uma redução nos valores de PCRus, que além de ser um importante marcador de inflamação, exerce importantes ações biológicas, como inibir a produção de NO evocada pela insulina em células endoteliais, através da inativação específica da rota da PI3K/Akt/eNOS (SCHWARTZ R,

et al., 2007). Similarmente ao fator de necrose tumoral alfa (TNF α), a PCR simultaneamente aumenta a produção de endotelina (ET-1) (XU JW, et al., 2006). Os dois grupos também demonstraram melhoras no controle glicêmico e no perfil lipídico, diminuindo fatores de risco para desenvolvimento de angiopatias.

Sabe-se que dentre os fatores que causam a formação da placa aterosclerótica está um aumento da resposta inflamatória na parede vascular, amplamente mediada por células imunológicas. Monócitos/macrófagos apresentam uma grande heterogeneidade de funções, que permitem tanto liberar substâncias pró-inflamatórias como substâncias antiinflamatórias (LUMENG CN, et al., 2007). Dessa forma, macrófagos ativados (M1) realizam fagocitose, produzem citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-12), geram EROS e NO pela enzima cNOS. Enquanto os macrófagos alternativamente ativados (M2), são capazes gerar altos níveis de citocinas antiinflamatórias como IL-10 e IL-1 Ra (GORDON S, 2007). Macrófagos do tipo M1 estão presentes na placa de aterosclerose, contribuindo para a vulnerabilidade e ruptura do trombo em formação. O exercício aeróbio de intensidade moderada pode modular a atividade de monócitos/macrófagos contribuindo para o aumento da fagocitose e da produção de EROS e ERN via a ativação do fator nuclear NF- κ B (ZALDIVAR F, et al., 2006). O NF- κ B é considerado um mediador imediato da resposta inflamatória e imune estando envolvido em diversos eventos patológicos (ROSSI A, et al., 1997), promovendo a transcrição de diversos fatores da resposta imunológica como citocinas pró-inflamatórias e cNOS (DROGE W, et al., 1994). Está também relacionado com a regulação da expressão de aproximadamente 200 genes da resposta imunológica, proliferação celular e mecanismo de inflamação (AGGARWAL BB, 2004). Uma das formas de ativação deste fator nuclear é o estresse oxidativo, característico do exercício de alta intensidade.

Nosso estudo demonstrou que, apesar de os valores basais da resposta fagocítica de macrófagos terem sido menores imediatamente após o exercício, nos indivíduos submetidos aos treinamentos a resposta ao exercício estava normalizada (Fig. 5), se não aumentada. Já nos indivíduos sedentários, aparentemente, o nível de estresse que esse protocolo de

exercícios pode causar, pode estar relacionado à redução desta resposta imunoinflamatória. Exercícios prolongados ou de alta intensidade, que caracterizariam uma carga extenuante para o indivíduo, ativam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, liberando na circulação o cortisol, agente imunossupressor, responsável por um potente efeito inibitório ao NFκB. Esse efeito antiinflamatório pode promover uma diminuição na ativação das células imunológicas, assim como de monócitos/macrófagos, reduzindo sua capacidade fagocítica. (SILVEIRA EM, et al., 2007; ZALDIVAR F, et al., 2006; OSTROWSKI K, et al., 1999; DRENTH JP, et al., 1998), mostrando assim um possível efeito protetor do exercício sobre a parede vascular.

Os dados deste trabalho também demonstraram que, além de importantes adaptações para o sistema vascular e provavelmente para o organismo como um todo, o treinamento concorrente periodizado, foi capaz de aumentar a potência aeróbia máxima e aumentar a força máxima em todos os grupos musculares avaliados, além de diminuir significativamente a massa corporal total e o percentual de gordura, o que não aconteceu no grupo que realizou apenas o treinamento aeróbio de intensidade moderada, que apresentou apenas um discreto aumento no valor de 1RM nos exercícios extensão de joelho e puxada dorsal, resultado que provavelmente se deve a uma maior experiência dos participantes quanto à realização do teste. Quando analisado o percentual de alteração dos valores de 1RM e de potência aeróbia ($\Delta\%$), o grupo TC foi significativamente maior que o grupo TA em todos os parâmetros analisados.

2. Conclusão

Os dados deste estudo mostraram que tanto o treinamento aeróbio não periodizado quanto concorrente periodizado, foram capazes de reduzir importantes fatores de risco para angiopatias. Ambos os protocolos de treinamento melhoraram o perfil lipídico e o controle glicêmico dos participantes, além de melhorar as respostas dos sistemas antioxidantes e imunoinflamatórios na resposta aguda ao exercício.

O treinamento concorrente periodizado não foi capaz de melhorar as respostas de FMD na população avaliada, diferentemente do treinamento aeróbio de moderada intensidade e não periodizado, que aumentou significativamente a resposta endotelial em resposta à hiperemia reativa. O treinamento concorrente foi capaz de aumentar a potência aeróbia e os valores de 1RM nos exercícios analisados. O treinamento aeróbio não aumentou os valores de potência aeróbia, mas causou um discreto incremento em alguns parâmetros de força. Os incrementos no grupo TC foi maior que no grupo TA em todos os parâmetros de força e $VO_{2máx}$ analisados.

Sugere-se a avaliação de outros parâmetros característicos da adaptação endotelial, como fatores de crescimento vascular derivados do endotélio e a concentração de nitratos/nitritos plasmáticos. A avaliação destes e de outros parâmetros pode oferecer um panorama mais consistente a respeito das adaptações do endotélio a diferentes tipos e cargas de treinamento. A participação do sistema nervoso simpático periférico na ativação de células imunoinflamatórias e na resposta endotelial ao exercício em indivíduos treinados também está em estudo em nosso laboratório.

Referências

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980 Nov 27;288(5789):373-6.
2. Glasser SP, Selwyn AP, Ganz P. Atherosclerosis: risk factors and the vascular endothelium. *Am Heart J*. 1996 Feb;131(2):379-84.
3. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME, Gallagher SJ, Coleman SM, Loscalzo J, et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*. 1990 Jul;86(1):228-34.
4. Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A, Greenlund K, et al. Heart disease and stroke statistics--2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2007 Feb 6;115(5):e69-171.
5. LUZ PL. Endotélio e doenças cardiovasculares. 1, editor. São Paulo: Ateneu; 2005.
6. Yasue H, Matsuyama K, Okumura K, Morikami Y, Ogawa H. Responses of angiographically normal human coronary arteries to intracoronary injection of acetylcholine by age and segment. Possible role of early coronary atherosclerosis. *Circulation*. 1990 Feb;81(2):482-90.
7. Wolin MS. Interactions of oxidants with vascular signaling systems. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jun;20(6):1430-42.
8. DeSouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, Dinunno FA, Monahan KD, Tanaka H, et al. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation*. 2000 Sep 19;102(12):1351-7.
9. Higashi Y, Yoshizumi M. Exercise and endothelial function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacol Ther*. 2004 Apr;102(1):87-96.
10. Watts K, Beye P, Siafarikas A, Davis EA, Jones TW, O'Driscoll G, et al. Exercise training normalizes vascular dysfunction and improves central adiposity in obese adolescents. *J Am Coll Cardiol*. 2004 May 19;43(10):1823-7.

11. Carpinelli RN, Otto RM. Strength training. Single versus multiple sets. *Sports Med.* 1998 Aug;26(2):73-84.
12. Karvonen MJ, Kentala E, Mustala O. The effects of training on heart rate; a longitudinal study. *Ann Med Exp Biol Fenn.* 1957;35(3):307-15.
13. Dekerle J, Baron B, Dupont L, Garcin M, Vanvelcenaher J, Pelayo P. Effect of incremental and submaximal constant load tests: protocol on perceived exertion (CR10) values. *Percept Mot Skills.* 2003 Jun;96(3 Pt 1):896-904.
14. Kraemer WJ, Fleck SJ, Maresh CM, Ratamess NA, Gordon SE, Goetz KL, et al. Acute hormonal responses to a single bout of heavy resistance exercise in trained power lifters and untrained men. *Can J Appl Physiol.* 1999 Dec;24(6):524-37.
15. Akerboom TP, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol.* 1981;77:373-82.
16. Kolberg A, Rosa TG, Puhl MT, Scola G, da Rocha Janner D, Maslinkiewicz A, et al. Low expression of MRP1/GS-X pump ATPase in lymphocytes of Walker 256 tumour-bearing rats is associated with cyclopentenone prostaglandin accumulation and cancer immunodeficiency. *Cell Biochem Funct.* 2006 Jan-Feb;24(1):23-39.
17. Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol.* 1985;113:548-55.
18. Jiang ZY, Woollard AC, Wolff SP. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. *Lipids.* 1991 Oct;26(10):853-6.
19. Arab K, Steghens JP. Plasma lipid hydroperoxides measurement by an automated xylenol orange method. *Anal Biochem.* 2004 Feb 1;325(1):158-63.
20. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976 May 7;72:248-54.
21. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the

International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Jan 16;39(2):257-65.

22. Newman SL, Mikus LK. Deposition of C3b and iC3b onto particulate activators of the human complement system. Quantitation with monoclonal antibodies to human C3. *J Exp Med*. 1985 Jun 1;161(6):1414-31.

23. Walter RJ, Berlin RD, Pfeiffer JR, Oliver JM. Polarization of endocytosis and receptor topography on cultured macrophages. *J Cell Biol*. 1980 Jul;86(1):199-211.

24. Sanguedolce MV, Capo C, Bongrand P, Mege JL. Zymosan-stimulated tumor necrosis factor-alpha production by human monocytes. Down-modulation by phorbol ester. *J Immunol*. 1992 Apr 1;148(7):2229-36.

25. Capo C, Meconi S, Sanguedolce MV, Bardin N, Flatau G, Boquet P, et al. Effect of cytotoxic necrotizing factor-1 on actin cytoskeleton in human monocytes: role in the regulation of integrin-dependent phagocytosis. *J Immunol*. 1998 Oct 15;161(8):4301-8.

26. Kroner EE, Peskar BA, Fischer H, Ferber E. Control of arachidonic acid accumulation in bone marrow-derived macrophages by acyltransferases. *J Biol Chem*. 1981 Apr 25;256(8):3690-7.

27. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 2006 Dec 14;444(7121):875-80.

28. Goldfarb AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ. Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2005 Feb;37(2):234-9.

29. Svensson MB, Ekblom B, Cotgreave IA, Norman B, Sjoberg B, Ekblom O, et al. Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiol Scand*. 2002 Sep;176(1):43-56.

30. Keaney JF, Jr., Loscalzo J. Diabetes, oxidative stress, and platelet activation. *Circulation*. 1999 Jan 19;99(2):189-91.

31. Vider J, Lehtmaa J, Kullisaar T, Vihalemm T, Zilmer K, Kairane C, et al. Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiology*. 2001 Mar;7(4):263-70.

32. Lew H, Pyke S, Quintanilha A. Changes in the glutathione status of plasma, liver and muscle following exhaustive exercise in rats. *FEBS Lett.* 1985 Jun 17;185(2):262-6.
33. Lennon SL, Quindry JC, French JP, Kim S, Mehta JL, Powers SK. Exercise and myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion. *Acta Physiol Scand.* 2004 Oct;182(2):161-9.
34. Aguilo A, Tauler P, Pilar Guix M, Villa G, Cordova A, Tur JA, et al. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem.* 2003 Jun;14(6):319-25.
35. Nojima H, Watanabe H, Yamane K, Kitahara Y, Sekikawa K, Yamamoto H, et al. Effect of aerobic exercise training on oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2008 Feb;57(2):170-6.
36. Husain K. Interaction of exercise training and chronic NOS inhibition on blood pressure, heart rate, NO and antioxidants in plasma of rats. *Pathophysiology.* 2003 Dec;10(1):47-56.
37. Margonis K, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Douroudos I, Chatzinikolaou A, et al. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis. *Free Radic Biol Med.* 2007 Sep 15;43(6):901-10.
38. Fearon IM, Faux SP. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. *J Mol Cell Cardiol.* 2009 Sep;47(3):372-81.
39. Fukai T, Siegfried MR, Ushio-Fukai M, Cheng Y, Kojda G, Harrison DG. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. *J Clin Invest.* 2000 Jun;105(11):1631-9.
40. Baeuerle PA, Baltimore D. I kappa B: a specific inhibitor of the NF-kappa B transcription factor. *Science.* 1988 Oct 28;242(4878):540-6.
41. Wan XS, Devalaraja MN, St Clair DK. Molecular structure and organization of the human manganese superoxide dismutase gene. *DNA Cell Biol.* 1994 Nov;13(11):1127-36.
42. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007 Mar 13;115(10):1285-95.

43. Maiorana A, O'Driscoll G, Cheetham C, Dembo L, Stanton K, Goodman C, et al. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Sep;38(3):860-6.
44. Vona M, Codeluppi GM, Iannino T, Ferrari E, Bogouslavsky J, von Segesser LK. Effects of different types of exercise training followed by detraining on endothelium-dependent dilation in patients with recent myocardial infarction. *Circulation*. 2009 Mar 31;119(12):1601-8.
45. Niebauer J, Cooke JP. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *J Am Coll Cardiol*. 1996 Dec;28(7):1652-60.
46. Stamler JS, Lamas S, Fang FC. Nitrosylation. the prototypic redox-based signaling mechanism. *Cell*. 2001 Sep 21;106(6):675-83.
47. Gimbrone MA, Jr. Vascular endothelium, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Am J Pathol*. 1999 Jul;155(1):1-5.
48. Schwartz R, Osborne-Lawrence S, Hahner L, Gibson LL, Gormley AK, Vongpatanasin W, et al. C-reactive protein downregulates endothelial NO synthase and attenuates reendothelialization in vivo in mice. *Circ Res*. 2007 May 25;100(10):1452-9.
49. Xu JW, Morita I, Ikeda K, Miki T, Yamori Y. C-reactive protein suppresses insulin signaling in endothelial cells: role of spleen tyrosine kinase. *Mol Endocrinol*. 2007 Feb;21(2):564-73.
50. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007 Jan;117(1):175-84.
51. Gordon S. Macrophage heterogeneity and tissue lipids. *J Clin Invest*. 2007 Jan;117(1):89-93.
52. Zaldivar F, Wang-Rodriguez J, Nemet D, Schwindt C, Galassetti P, Mills PJ, et al. Constitutive pro- and anti-inflammatory cytokine and growth factor response to exercise in leukocytes. *J Appl Physiol*. 2006 Apr;100(4):1124-33.
53. Rossi A, Elia G, Santoro MG. Inhibition of nuclear factor kappa B by prostaglandin A1: an effect associated with heat shock transcription factor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Jan 21;94(2):746-50.

54. Droge W, Schulze-Osthoff K, Mihm S, Galter D, Schenk H, Eck HP, et al. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *FASEB J*. 1994 Nov;8(14):1131-8.
55. Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB: the enemy within. *Cancer Cell*. 2004 Sep;6(3):203-8.
56. Silveira EM, Rodrigues MF, Krause MS, Vianna DR, Almeida BS, Rossato JS, et al. Acute exercise stimulates macrophage function: possible role of NF-kappaB pathways. *Cell Biochem Funct*. 2007 Jan-Feb;25(1):63-73.
57. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol*. 1999 Feb 15;515 (Pt 1):287-91.
58. Drenth JP, Krebbers RJ, Bijzet J, van der Meer JW. Increased circulating cytokine receptors and ex vivo interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1beta production but decreased tumour necrosis factor-alpha production after a 5-km run. *Eur J Clin Invest*. 1998 Oct;28(10):866-72.

11. Conclusões e recomendações

Este estudo deixou claro o papel do treinamento sobre os parâmetros analisados. Tanto o treinamento aeróbio de intensidade moderada, quanto o treinamento de força unido ao trabalho aeróbio com incrementos sistemáticos de carga (treinamento concorrente) melhoram a resposta aguda ao exercício quanto a parâmetros de estresse oxidativo, além de melhorar o perfil lipídico e o controle glicêmico dos participantes. Porém, o treinamento concorrente traz outras vantagens para o praticante, como aumentos de força e uma melhora na potência aeróbia, por ser um programa de treinamento com incrementos sistemático nas cargas de trabalho, além de mostrar uma redução significativa na massa corporal total e no percentual de gordura. Do ponto de vista dos parâmetros de estresse oxidativo e da atividade funcional dos monócitos/macrófagos, a primeira sessão de treinamento concorrente nos indivíduos sedentários se mostrou mais estressante que o exercício aeróbio apenas, pois foi capaz de aumentar os níveis de lipoperóxidos e de diminuir a atividade fagocítica de macrófagos após o exercício. Partindo do princípio que as adaptações ocorrem em situações de estresse e de quebra da homeostase, o treinamento concorrente oferece um estresse metabólico maior que o treinamento aeróbio moderado. O treinamento aeróbio foi capaz de promover uma melhora significativa nos valores de FMD, mostrando uma maior capacidade de modulação do tônus vascular pelo endotélio, resultados que não foram encontrados no grupo que realizou o treinamento concorrente, porém, mais parâmetros devem ser analisados para se afirmar que o treinamento de força não é capaz de melhorar a resposta endotelial.

Sugerimos um estudo com desenho semelhante, porém com a mensuração de outros parâmetros, que seriam marcadores de adaptações do tecido endotelial, como os níveis de nitritos/nitratos plasmáticos, além da avaliação de fatores de crescimento vascular, expressão de HSP e mensuração de possíveis alterações nos níveis de células progenitoras endoteliais.

12. Anexos

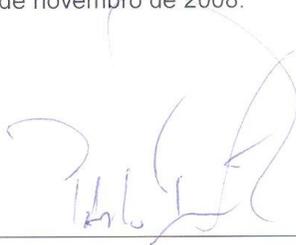
12.1. Termo de concordância FISCEL

TERMO DE CONCORDÂNCIA

Declaro que o **Laboratório de Fisiologia Celular**, representado e coordenado por mim, **Professor Dr. Paulo Ivo Homem de Bitencourt Júnior**, está ciente e concorda com a realização das coletas de dados do projeto de mestrado do aluno **Maximiliano Isoppo Schaun**, intitulado **Efeito de um programa de treinamento físico sobre marcadores de estresse oxidativo e função endotelial em indivíduos não-atletas de meia idade**, nas suas dependências.

Porto Alegre, 5 de novembro de 2008.

Assinatura: _____



Paulo Ivo Homem de Bitencourt Jr.
Professor Associado
Laboratório de Fisiologia Celular - FisCel
Departamento de Fisiologia - UFERSA

12.2. Termo de concordância Instituto de Cardiologia



TERMO DE CONCORDÂNCIA

Declaro que o **Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul/ Fundação Universitária de Cardiologia** está ciente e concorda com a realização das coletas de dados do projeto de mestrado do aluno **Maximiliano Isoppo Schaun**, intitulado **Efeito de um programa de treinamento físico sobre marcadores de estresse oxidativo e função endotelial em indivíduos não-atletas de meia idade**, nas dependências do centro de pesquisas desta instituição.

Porto Alegre, 5 de novembro de 2008.

Dra. Beatriz D'Agord Schaun
Pró-Diretora de Pesquisa
Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul
Fundação Universitária de Cardiologia

13. Apêndice

13.1. Termo de consentimento informado

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo que tem como objetivo avaliar os efeitos do treinamento físico sobre parâmetros de estresse oxidativo, função endotelial em indivíduos sedentários de meia idade.

Para isso, será necessário que você se envolva com o projeto de mestrado “*Efeito do treinamento físico sobre marcadores de estresse oxidativo e função endotelial em indivíduos sedentários de meia idade do sexo masculino*” durante 12 semanas, comparecendo ao Laboratório de Pesquisa do Exercício (LAPEX) da Escola de Educação Física (ESEF) da UFRGS, para integrar um programa de treinamento e demais avaliações.

Os procedimentos a serem realizados serão os seguintes: avaliação da composição corporal; teste de esforço máximo em cicloergômetro e determinação de cargas para treinamento de força. Após essa etapa, terá início na semana seguinte o programa de treinamento com duração de 12 semanas. Serão realizadas 2 avaliações, uma antes do início do programa de treinamento e uma ao final do mesmo. Além disso, serão coletadas amostras de sangue para avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo após as sessões respectivas às avaliações. Os momentos das coletas de sangue serão: em repouso e imediatamente após o exercício. Todas as coletas de sangue serão feitas no LAPEX, por um profissional da saúde capacitado e habilitado.

Você terá os resultados sobre o seu percentual de gordura corporal, sua capacidade cardiorrespiratória, perfil lipídico e as principais solicitações metabólicas do exercício realizado mediante sua capacidade individual.

Durante a realização do teste de esforço máximo você poderá sentir algum desconforto como náuseas e enjôo, devido à alta intensidade imposta pelo exercício. Nesse caso, você terá um acompanhamento adequado para seu restabelecimento. Um médico estará presente no momento da realização dos testes.

A participação no estudo é voluntária, e os participantes têm direito a acessar seus resultados ao longo do estudo. Os resultados deste estudo serão mantidos confidenciais e quando divulgados preservarão o anonimato dos participantes. Você é livre para realizar perguntas antes, durante e após o estudo, estando livre para desistir do mesmo em qualquer momento, sem prejuízo algum.

O nome do participante não será em nenhum momento mencionado no momento da publicação dos resultados da pesquisa, esses resultados serão destinados a publicações em periódicos científicos das respectivas áreas de interesse acadêmico.

O pesquisador responsável se compromete a acompanhar os participantes e prestar eventuais informações a qualquer momento do estudo. Também se compromete, caso houver uma nova informação que altere o que foi previsto durante a obtenção deste consentimento informado, avisar imediatamente aos participantes e ao Comitê de Ética em Pesquisa, providenciando uma nova versão deste termo de consentimento.

Qualquer dúvida ou dificuldade entre em contato com os pesquisadores responsáveis Maximiliano Isoppo Schaun ou Alvaro Reischak de Oliveira pelos telefones 99845565 ou 3318-5861.

Este termo de consentimento livre e esclarecido deverá ser preenchido em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa, ou por seu representante legal, e outra arquivada pelo pesquisador.

Este documento está cadastrado e será revisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, com protocolo número 2007952. Telefone Comitê de Ética- UFRGS: 3308-3629

13.2. Declaração

Declaro estar ciente dos benefícios, riscos e conseqüências deste estudo. Não receberei qualquer pagamento pela minha participação, além do acesso aos meus resultados. Aceito, dessa forma, participar deste estudo.

Assinatura do (a) voluntário (a).

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Porto Alegre, _____ de _____ de _____.

13.3. Ficha de anamnese

Nome:

Endereço:

Cidade: _____ CEP:

Telefones: _____ e-

mail: _____

Data da Entrevista: ____/____/____ Data de Nascimento:

____/____/____

1) Possui alguma lesão muscular, articular ou tendinosa crônica?

2) Já sofreu alguma lesão grave no decorrer da vida (infância, adolescência, vida adulta)?

3) Quando foi a sua última lesão? Em que parte do corpo ocorreu?

4) Sente dores musculares freqüentemente? Em que parte do corpo? Qual a freqüência (diariamente; 24 horas após caminhada ou prática de algum esporte; 48 horas após)?

5) É fumante? Caso afirmativo, quantos cigarros consumidos por dia?

7) Realiza algum tipo de suplementação alimentar? Caso afirmativo, que tipo de suplementos utiliza (vitaminas, minerais, etc)?

8) Faz uso diário de algum método anticoncepcional? Caso afirmativo, qual? Há quanto tempo?

9) Possui alguma doença respiratória como asma, bronquite, etc?

10) Diabético?

11) Faz uso diário de algum tipo de medicamento (anti-inflamatórios, analgésicos, remédios para pressão arterial, administração de insulina, etc)?

12) Possui histórico de doença familiar (diabetes, hipertensão, osteoporose, etc)?

13) Outras observações sobre sua saúde que queira acrescentar:

13.4. Ficha de composição corporal

Data: _____ **Horário:** _____ **Avaliador:** _____

Voluntário: _____ **Massa Corporal (kg):** _____ **Estatura (cm):** _____

Dobras Cutâneas (mm):

	1 ^a	2 ^a	3 ^a	Mediana
1. Tríceps				
2. Subescapular				
3. Peitoral				
4. Axilar				
5. Bíceps				
6. Supra ilíaca				
7. Abdominal				
8. Coxa (1/3 ant.)				
9. Tríceps Sural				

Perímetros (cm):

	Direito	Esquerdo
1. Bíceps - relaxado		
2. Bíceps - contraído		
3. Antebraço - proximal		
4. Antebraço - distal		
5. Tórax - mesoesternal		
6. Cintura		
7. Abdômen		
8. Quadril		
9. Coxa - superior		
10. Coxa - média		
11. Coxa - inferior		
12. Tríceps Sural		
13. Tornozelo		

Diâmetros Ósseos (mm)

1. Úmero	
2. Bistilóide	
3. Fêmur	
4. Bimaleolar	