

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

**EFEITO AGUDO DO *RAST TEST* SOBRE O ESTRESSE  
OXIDATIVO E OS MARCADORES INDIRETOS DE DANO  
MUSCULAR EM CORREDORES ADOLESCENTES**

**PATRÍCIA MORGANA FERREIRA SANTOS**

São Cristovão  
2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

**EFEITO AGUDO DO *RAST TEST* SOBRE O ESTRESSE  
OXIDATIVO E OS MARCADORES INDIRETOS DE DANO  
MUSCULAR EM CORREDORES ADOLESCENTES**

**PATRÍCIA MORGANA FERREIRA SANTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Emerson Pardono

São Cristovão  
2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Santos, Patrícia Morgana Ferreira

S237e Efeito agudo do rast test sobre o estresse oxidativo e os marcadores indiretos de dano muscular em corredores adolescentes / Patrícia Morgana Ferreira Santos ; orientador Emerson Pardono. – São Cristóvão, 2015.

51 f. : il.

Dissertação (mestrado em Educação Física)–  
Universidade Federal de Sergipe, 2015.

1. Corredores (Esportes). 2. Exercícios físicos. 3. Aptidão física do atleta. 4. Atrofia muscular. 5. Antioxidantes. I. Pardono, Emerson, orient. II. Título.

CDU 796.422-053.6

PATRÍCIA MORGANA FERREIRA SANTOS

EFEITO AGUDO DO *RAST TEST* SOBRE O ESTRESSE  
OXIDATIVO E OS MARCADORES INDIRETOS DE DANO  
MUSCULAR EM CORREDORES ADOLESCENTES

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Emerson Pardono

Aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

1º Examinador: Prof. Dr. Emerson Pardono

---

2º Examinador: Prof. Dr. Silvan Silva de Araújo

---

3º Examinador: Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal

PARECER

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos vocês que participaram de todo o processo da minha concretização de mais um sonho: a minha mãe Izabel, minhas irmãs Ana Paula e Meiry Jussia e em especial ao meu marido (Amo, amo, amo), apesar de tudo, sempre me apoiou e a minha vida, Maria Mariana.

Tudo por vocês!

## AGRADECIMENTO

Expresso meus agradecimentos a todos os que compartilharam o trilhar de mais esse caminho percorrido, contribuindo, direta e indiretamente, para a realização desta pesquisa, dando-me forças e sustentação em todos os momentos: de tristeza e alegria.

Minha gratidão, em primeiro lugar, a Deus, que sempre está comigo, iluminando-me, sendo meu refúgio e fortaleza nos momentos mais difíceis.

A minha família, que sempre me apoiou em especial a meu marido Fábio Winiston, te amo! E minha filha Maria Mariana, minha vida! Minha mãe Izabel Raimunda Ferreira Santos minhas irmãs Ana Paula Ferreira Santos e Meiry Jussia Ferreira Santos, meu sogro, Antônio da Silva e minha sogra Maria das Graças dos Santos Silva.

Ao professor doutor Emerson Pardono, orientador, que possibilitou momentos únicos de aprendizagem e desesperos. Tornando mais um grande incentivador para o meu enriquecimento profissional e intelectual. Obrigado!

Aos colegas e professores do mestrado, por tudo o que com eles aprendi e por compartilharem a construção do meu estudo.

Agradecimento em especial ao Professor Sérgio e seus atletas que constituíram a amostra da pesquisa: Victor, Fagner, Samuel, Lucas, Yara, Estefani, Laysla, Matheus, Jonathan, Robert e David. Obrigada pela colaboração.

Aos meus colegas de pesquisa e de trabalho que não poderiam faltar, em especial, Matias, Sara, Isis, João, Clésio, Silvan e Jymmys, que bom tê-los comigo. E ao Programa Qualivida que me apoiou, em especial aos coordenadores Silvio Adriano, Nivalda, Aparecida Mota e Maria José pela revisão ortográfica do estudo.

A professora Evaleide Diniz, professora Sandra e Fernando do Laboratório de Biofísica do Coração (LBC) e ao professor Charles do Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioquímica (LQPNB) que cederam as instalações laboratoriais para as devidas análises das amostras.

A coordenação do curso de Enfermagem da Faculdade de Sergipe (FASE), Joanita e Ruthe pela liberação da sua equipe de enfermagem para a coleta sanguínea.

A todos, muito obrigada.

## RESUMO

Durante as duas últimas décadas vem crescendo substancialmente o interesse pela performance anaeróbica de crianças e adolescentes. No entanto, poucos estudos abordam os efeitos dos exercícios de alta intensidade e curta duração, como o *RAST TEST*, sobre o estresse oxidativo e marcadores indiretos de lesões musculares em adolescentes, o que pode favorecer o adequado controle das sessões de treino e, conseqüentemente, o desempenho atlético. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi investigar o efeito agudo de um teste anaeróbio máximo - *RAST TEST* - sobre o estresse oxidativo e danos musculares em corredores adolescentes. Para tal, participaram voluntariamente do estudo nove adolescentes corredores, de ambos o sexo e idade entre 15 e 18 anos ( $59,25 \pm 11,45$  kg;  $1,70 \pm 0,06$  m;  $19,57 \pm 2,52$  kg.m<sup>2</sup>;  $0,84 \pm 0,08$  e  $12,56 \pm 4,01$  %G). Todos os voluntários realizaram uma semana de familiarização, sendo respeitado um intervalo mínimo de 72h para a realização do *RAST TEST* propriamente dito. As coletas sanguíneas para realizar as análises bioquímicas foram realizadas antes e após o teste. Os dados foram expressos como média  $\pm$ DP e analisados por meio do teste *t* de *Student* para dados pareados, bem como aplicada correlação de Pearson entre todas as variáveis, sendo adotado um nível de significância de 5%. As concentrações séricas de lactato desidrogenase (LDH) (pré:  $326,0 \pm 72,65$  U/L e pós:  $758,72 \pm 135,09$  U/L) e da creatina quinase (CK) (pré:  $278,1 \pm 78,64$  U/L e pós:  $983,62 \pm 339,49$  U/L) tiveram um aumento de 132,72% e 253,69% após a realização do *RAST TEST* ( $p \leq 0,05$ ). Em relação à enzima antioxidante, o protocolo também promoveu um aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) da atividade da glutatona depois do teste, sendo evidenciado aumento do estresse oxidativo avaliado pelo TBARS no pós-teste ( $p \leq 0,05$ ). De acordo com os resultados apresentados concluímos que o *RAST TEST* além de adequadamente avaliar a aptidão anaeróbia de atletas adolescentes, promove um aumento significativo de marcadores de dano muscular e aumento das concentrações de TBARS e da atividade da GPx. Contudo, o acentuado aumento na atividade da GPx sugere um eficiente mecanismo de prevenção de danos celulares e evitando, assim, um quadro de estresse oxidativo em atletas adolescentes submetidos ao *RAST TEST*. Palavras Chaves: Exercício de alta intensidade, teste anaeróbio, desempenho atlético, enzimas antioxidantes, marcadores de dano muscular.

## ABSTRACT

During the last two decades it has been substantially growing interest in anaerobic performance of children and adolescents. However, few studies address the effects of high intensity and short duration exercise, such as RAST TEST, on oxidative stress and indirect markers of muscle injuries in adolescents, which can promote the proper management of training sessions and, consequently, Athletic performance. In this sense, the objective of this study was to investigate the acute effect of a maximum anaerobic testing - *RAST TEST* - on oxidative stress and muscle damage in adolescents corridors. To do this voluntarily participated in the study nine runners adolescents of both sex and age between 15 and 18 years ( $59.25 \pm 11.45$  kg;  $1.70 \pm 0.06$  m;  $19.57 \pm 2.52$  kg. m<sup>2</sup>,  $0.84 \pm 12:08$  and  $12.56 \pm 4.01\%$  G). All volunteers performed a week of familiarization, being respected a minimum of 72 hours to carry out the *RAST TEST* itself. Blood collection to perform biochemical analyzes were performed before and after the test. Data were expressed as mean  $\pm$  SD and analyzed using the Student t test for paired data and applied Pearson correlation between all variables, adopting a 5% significance level. Serum lactate dehydrogenase (LDH) (before:  $326.0 \pm 72,65$ U / L and post:  $758.72 \pm 135,09$ U / L) and creatine kinase (CK) (before:  $278.1 \pm 78$  64U / L and post:  $983.62 \pm 339.49$  U / L) increased by 132.72% and 253.69% after the test RAST ( $p \leq 0.05$ ). Regarding the antioxidant enzyme, the protocol also increased significantly ( $p \leq 0.05$ ) glutathione activity after the test, and demonstrated increased oxidative stress assessed by TBARS in the post-test ( $p \leq 0.05$ ). According to the presented results we conclude that the RAST TEST addition to properly assess the anaerobic fitness of adolescent athletes, promoting a significant increase in muscle damage markers and increased concentrations of TBARS and GPx activity. However, the sharp increase in GPx activity suggests an efficient mechanism for the prevention of cell damage and thus preventing oxidative stress in adolescents athletes the RAST test. Key words: high-intensity exercise, anaerobic test, athletic performance, antioxidant enzymes, muscle damage markers.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 <i>RAST TEST</i> , Aptidão Anaeróbia e Exercício Físico.....	13
2.2 Estresse Oxidativo e Exercício.....	17
2.2.1 Estresse oxidativo.....	17
2.2.2 Danos musculares e estresse oxidativo.....	20
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 Geral.....	22
3.2 Específicos .....	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1 Amostra.....	23
4.2 Procedimentos.....	23
4.2.1 Avaliação Antropométrica.....	24
4.2.2 Protocolo de Exercício Físico.....	24
4.2.3 Coleta sanguínea, obtenção do soro e armazenamento.....	25
4.2.4 Marcadores de dano muscular.....	26
4.2.4.1 Quantificação da Creatina quinase (CK) e Lactato desidrogenase (LDH).....	26
4.2.4.2 Estresse oxidativo.....	26
4.2.4.2.1 Determinação de lipoperoxidação (TBARS).....	26
4.2.4.2.2 Determinação da Glutathione Peroxidase (GPx).....	27
4.3 Análise estatística.....	27
5 RESULTADOS.....	28
6 DISCUSSÃO.....	31
7 CONCLUSÃO.....	36
8 REFERÊNCIAS.....	37
9 APENDICE.....	45
10 ANEXO.....	48

## LISTA DE ABREVIÇÕES

*RAST TEST- Running Anaerobic Sprint Test*

ATP- Adenosina trifosfato

EROs/ ROS- Espécies reativas de oxigênio

RNS- Espécies reativas de nitrogênio

CK- Creatina quinase

LDH- Lactato desidrogenase

SOD- Superóxido dismutase

CAT- Catalase

GPx- Glutathiona peroxidase

CP- Creatina fosfato

GSH- Glutathiona reduzida

GSSG- Glutathiona oxidada

Gr- Glutathiona redutase

TBARS- Ácido tiobarbitúrico

PL- Peroxidação lipídica

MDA- Malonaldeído

## 1. INTRODUÇÃO

O *Running Anaerobic Sprint Test (RAST TEST)* vem sendo uma ferramenta bastante utilizada para estimar a aptidão anaeróbia, sendo importante para a quantificação de intensidades de exercícios e prescrição de treinamento em atletas<sup>1</sup>, sendo fator determinante de desempenho em provas desportivas de curta duração, principalmente no atletismo, em que é requerida a manutenção prolongada de grandes quantidades de fornecimento de energia<sup>2</sup>, onde a participação da via anaeróbia para a ressíntese de ATP é observada principalmente nos momentos iniciais do exercício ou durante a realização de esforços com intensidades suficientemente altas, resultando em um déficit máximo de oxigênio acumulado.

Adicionalmente, exercício de alta intensidade pode provocar danos a homeostase celular devido ao aumento na produção de radicais livres, que é definido como qualquer átomo, grupo de átomos ou moléculas com um elétron não pareado ocupando sua órbita externa. Entretanto, existem compostos igualmente reativos que não possuem elétron não pareado na última camada, sendo classificadas como espécies reativas de oxigênio (EROs) ou espécies reativas de nitrogênios (RNS)<sup>3</sup>.

Uma vez que a produção de EROs é aumentada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio, no entanto, quando acontece um desequilíbrio entre a produção de EROs e essa defesa antioxidante, a qual se prevalece uma situação metabólica caracterizada como estresse oxidativo, que está associada a danos aos fosfolípidios de membranas celulares, oxidação de compostos tióis, cofatores enzimáticos, proteínas, nucleotídeos e DNA, além de disfunções metabólicas musculares e aumento de seus respectivos marcadores de danos<sup>4,5</sup>.

Observa-se que durante a atividade muscular intensa, a demanda energética pode aumentar em até 35 vezes em relação ao repouso, logo, há um grande aumento no consumo de oxigênio, na sua maior parte em consequência do aumento do trabalho muscular. Alguns estudos revelam que, o aumento de EROs, ácido láctico e catecolaminas estão diretamente ligados aos mecanismos

iniciais das lesões no músculo, tendo como resultado o aumento da creatina quinase (CK) e da lactado desidrogenase (LDH), bem como aumento do processo inflamatório após os exercícios<sup>5,6,7,8</sup>.

Ainda, outros estudos investigaram os efeitos do exercício de alta intensidade e curta duração na atividade das enzimas antioxidantes<sup>9,10</sup> e dos marcadores indiretos de lesões musculares em adolescentes, tanto como alternativas de amenizar o estresse oxidativo por este tipo de exercício quando, possivelmente, melhorar o desempenho atlético<sup>11</sup>. Neste sentido, questionou-se quanto ao efeito do RAST TEST sobre os marcadores de estresse oxidativo e sobre os marcadores indiretos de dano muscular em atletas corredores e adolescentes, bem como possíveis correlações entre estes marcadores fisiológicos com a *performance* no referido teste. De maneira geral, hipotetizou-se que ocorreria aumento destas variáveis fisiológicas após o teste e que estas não se correlacionariam com o dano aos fosfolipídios de membranas celulares, principalmente pela característica anaeróbia do teste.

Por fim, determinar parâmetros da aptidão anaeróbia, bem como as resultantes referentes ao estresse oxidativo e dano muscular, oriundos de um esforço anaeróbio máximo corriqueiramente empregado no dia-a-dia do treinamento desportivo, favorecerá a adoção de estratégias relacionadas aos estímulos subsequentes, tais como: a) o tempo necessário de descanso entre os treinos, ou; b) a aplicação de treinos regenerativos, de baixa intensidade e moderado volume, ou; c) realização de treinos técnico-táticos e formativos. Tais ações contribuem para que os atletas não adentrem em uma condição de *overtraining* e otimizem o seu desempenho físico.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – RAST TEST, Aptidão Anaeróbia e Exercício Físico

Vários procedimentos foram desenvolvidos ao longo dos anos para estimar a energia e/ou capacidade do músculo esquelético quanto à produção de energia pela via anaeróbia. Pois, a ressíntese de ATP deve ser realizada rapidamente para prevenir a fadiga e manter a contração muscular. Dentre tais testes, destacam-se o teste de corrida de *sprint* anaeróbio (*RAST TEST*), o teste de Wingate, o teste de corrida anaeróbia máxima, os testes de saltos vertical e horizontal, a corrida de 36m, o teste de 40 segundos, o teste de Margaria, o teste isocinético mono-articular e o teste de força-velocidade em ciclo ergômetro ou esteira<sup>12,13,14,15</sup>. No entanto, embora esses testes sejam eficientes, a maioria não é considerada padrão ouro para avaliação da aptidão anaeróbia<sup>14</sup>.

A praticidade de alguns desses testes, que normalmente não requerem a utilização de equipamentos caros e não exigem muito tempo para aplicação, favorecem a sua realização. Neste contexto, destacam-se dois testes: o teste de Wingate, uma vez que só precisa de 30 segundos em um cicloergômetro<sup>15</sup>, sendo um excelente preditor da aptidão anaeróbia<sup>14,15</sup>, reprodutível e um bom indicador de desempenho máximo em curta distância<sup>16,17,18</sup>; e o *RAST TEST*<sup>19</sup>.

O *RAST TEST* foi desenvolvido na universidade de Wolverhampton, no Reino Unido, para determinar as potências máxima, média e mínima, bem como aferir a tolerância à fadiga (Índice de fadiga) em corrida<sup>20</sup>, ou seja, para estimar a aptidão anaeróbia, além de ser aplicado para a quantificação de intensidades de exercícios e prescrição de treinamento em atletas<sup>21</sup>. Este teste consiste em correr em máxima velocidade 35 metros por seis vezes, havendo 10s de recuperação entre cada corrida. A partir do resultado é identificada a potência máxima, média, mínima e o índice de fadiga de cada sujeito, com base nos seguintes parâmetros e equações:

- (1) Potência máxima: maior potência registrada;
- (2) Potência média: média das seis potências registradas;
- (3) Potência mínima: menor potência registrada;

(4) Índice de fadiga: % da queda de potência [(Maior Potência - Menor Potência / Maior Potência) x 100].

A equação utilizada para estimar a potência é:  $POTÊNCIA (W) = PESO \times DISTÂNCIA^2 / TEMPO^3$ .

Os resultados do *RAST TEST* podem dar uma estimativa da energia e determinantes neuromusculares do desempenho anaeróbia máxima, e parece ser uma boa opção para o protocolo de avaliação para ser usado em esportes que tem a corrida como forma de execução para locomoção, tais como futebol, basquete, handebol e principalmente o atletismo<sup>21</sup>. Como o atletismo caracteriza-se pela diversidade de provas, sendo que cada uma delas é marcada pela presença de condições específicas de treinamento e presença de elementos básicos, como correr, saltar, lançar ou arremessar<sup>22</sup>, logo, realizar estes elementos com eficiência e com uma boa potência muscular, requer treinamento específico e para tal faz-se necessário avaliar a aptidão anaeróbia, uma vez que este é fator determinante da *performance* em provas desportivas de curta duração em que é requerida a manutenção prolongada de potência muscular e grandes quantidades de fornecimento de energia<sup>2</sup>. Para isso é necessário compreender as bases fisiológicas no que se refere ao exercício físico e a demanda energética.

O exercício físico é uma condição onde ocorre um aumento da demanda energética do organismo visando à manutenção da atividade muscular. A energia derivada dos macronutrientes ingeridos na alimentação tem fundamental importância para o fornecimento de energia química, contribuindo com a manutenção do trabalho muscular a partir da geração de adenosina trifosfato (ATP)<sup>23,24,25</sup>.

Dentre os vários sistemas envolvidos no fornecimento energético para ressíntese de ATP, podemos destacar o papel das reservas de substratos energéticos que, por diferentes vias de fornecimento de energia, contribuem para a constante homeostase energética<sup>22</sup>. O substrato energético utilizado durante o exercício dependerá do tipo, intensidade e duração da atividade física. Dependendo da modalidade esportiva em questão basicamente três sistemas de fornecimento de energia estarão atuando para o desempenho do indivíduo: ATP-CP; Sistema anaeróbio; Sistema aeróbio<sup>15,23,24,25</sup>.

A intensidade e/ou a duração do esforço, bem como o estado inicial das reservas de substratos energéticos e o nível de treinamento do atleta podem interferir sobre a predominância na ativação de uma ou de outra via metabólica, indicando maior utilização de um determinado substrato energético. Assim, os fosfatos de alta energia, os estoques de glicogênio muscular e hepático, e os lipídeos estocados nos adipócitos podem contribuir com maior ou menor magnitude com a geração de energia durante o exercício<sup>22</sup>.

Atividades realizadas por um longo período de tempo podem apresentar um equilíbrio (*steady-state*) entre a capacidade de geração de energia e a demanda decorrente da atividade muscular. Contudo, nos momentos iniciais do esforço e em exercícios de alta intensidade, a ativação das reservas de substratos energéticos torna-se fundamental para o atendimento da maior exigência metabólica. Desta forma, o funcionamento e/ou a ativação destas vias de fornecimento de energia tem como objetivo fornecer uma quantidade adequada de nutrientes para o desempenho da atividade muscular<sup>22,23,24</sup>.

As vias geradoras de energia pela utilização das reservas de substratos teciduais podem depender ou não da presença de oxigênio para a ocorrência de suas reações, sendo que a predominância destas vias metabólicas tem íntima relação com a duração e intensidade da atividade. O sistema de fornecimento de energia dependente de oxigênio (aeróbio) produz ATP continuamente, porém sua velocidade de produção é baixa<sup>22</sup>.

Nos momentos iniciais, devido ao aumento abrupto da necessidade energética, a ativação da via anaeróbia tem grande participação no fornecimento energético, em função do déficit inicial de oxigênio. Nesta fase inicial de transição o composto de alta energia creatina-fosfato (CP) é o principal responsável pelo desempenho do trabalho muscular durante o exercício, principalmente nos segundos iniciais. A glicólise anaeróbia também tem fundamental importância para a geração de ATP durante os primeiros minutos de atividade, podendo utilizar glicogênio muscular como substrato energético. Esta participação do metabolismo anaeróbio pode ser confirmada pela observação de ausência de modificações significativas do  $VO_2$  no início do exercício, pois a participação da via anaeróbia de fornecimento de energia é observada predominantemente nos momentos iniciais do exercício ou durante a realização de esforços com

intensidades suficientemente altas que resultam em um déficit de oxigênio<sup>22,24,25,26</sup>.

Consequentemente o exercício de alta intensidade é acompanhado pela produção de radicais livres que causam alterações das membranas celulares. A produção contínua de radicais livres e/ou espécies reativas (ROS/RNS) durante os processos metabólicos culmina no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante. Este tem o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e controlar a ocorrência de danos decorrentes, quando acontece um desequilíbrio entre a produção de EROs e essa defesa antioxidante, se estabelece uma situação metabólica caracterizada como estresse oxidativo<sup>4,27</sup>.

Os antioxidantes são substâncias que auxiliam na redução dos efeitos do estresse e da falta de oxigênio, formando complexos que atacam as reações produtoras de radicais livres. Essa capacidade de defesa do sistema antioxidante depende de uma dieta adequada em micronutrientes (vitaminas, minerais, aminoácidos) e a produção endógena de antioxidantes como o glutathione<sup>27</sup>.

Pois, o sistema de defesa antioxidante está dividido em enzimático e não enzimático. Sendo que o primeiro inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx)<sup>28,29,30</sup>. Essas enzimas agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou atenuando a formação de radicais livres e espécies não-radicaais, envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, consequentemente, com a ocorrência de danos oxidativos<sup>31,32,33,34</sup>.

As enzimas CAT e GPx agem com o mesmo propósito, ou seja, o de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio. A ação da GPx depende da manutenção do ciclo redox da glutathione, por meio do controle da relação entre glutathione reduzida (GSH) e oxidada (GSSG)<sup>27,28,34</sup>. A GSH é um tripeptídeo, formado por glicina, ácido glutâmico e cisteína e constitui o tiol redutor mais abundante no meio intracelular. A manutenção de concentrações adequadas de GSH é feita a partir da atividade da glutathione redutase (Gr) que utiliza equivalentes redutores do NADPH para manter glutathione na forma reduzida, como substrato para glutathione peroxidase. Dessa forma, a atuação eficiente GPx exige um sistema enzimático sequencial que envolve a glutathione redutase e as enzimas que mantêm concentração de NADPH, no citoplasma e mitocôndria.

Os compostos não enzimáticos incluem compostos sintetizados pelo organismo humano como vitamina A (betacaroteno), E (tocoferol) e C (ácido ascórbico), junto com minerais como Zn, atuam como agentes antioxidantes<sup>5,6,28,34</sup>. Alguns autores têm relatado que o treinamento promove o aumento da atividade enzimática antioxidante muscular.

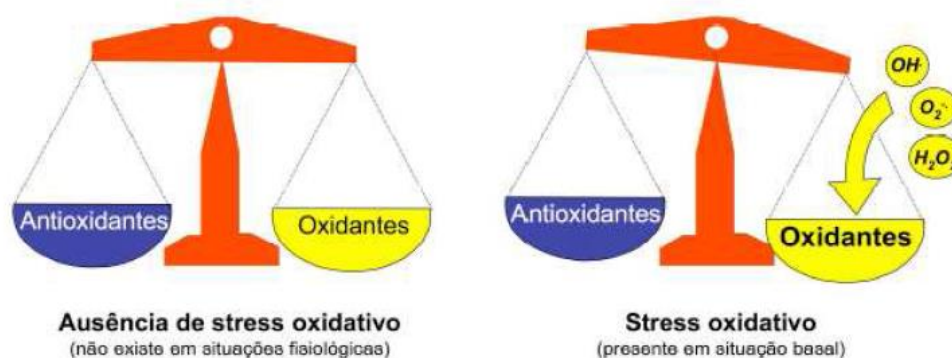
Nesse contexto, o exercício parece promover ajustes no equilíbrio do sistema defensivo antioxidante, mas quando a fração antioxidante é comprometida aumenta a suscetibilidade ao dano muscular. De fato, parece que o exercício regular de intensidade moderada é necessário para manter o sistema de defesa antioxidante<sup>27</sup>. A frequência e a intensidade em que é realizado o exercício físico altera o balanço entre o pró-oxidante e antioxidante<sup>5</sup>.

## **2.2 – Estresse Oxidativo e Exercício**

### **2.2.1. Estresse oxidativo**

O desequilíbrio entre produção de ROS/RNS e remoção destes pelos sistemas de defesa antioxidante é chamado de estresse oxidativo. Esse estresse é uma condição celular ou fisiológica que, quando aumentada causa danos às estruturas celulares, com consequente alteração funcional e prejuízo das funções vitais<sup>3</sup>, em diversos tecidos e órgãos, tais como músculos, fígado, tecidos adiposo<sup>3,29</sup>, vascular<sup>3,30</sup> e cerebral<sup>31,32</sup>. No entanto, o efeito deletério do estresse oxidativo varia consideravelmente de um ser vivo para outro, de acordo com a idade, o estado fisiológico e dieta<sup>3,31</sup>.

Quando o organismo excede o nível de esforço físico ao qual está adaptado, há uma maior produção de EROs e maior depleção do sistema de defesa antioxidante, o qual não consegue manter o balanço redox, reações de transferência de elétrons e é regulado por uma quantidade relativa de substâncias oxidantes e redutoras<sup>32</sup>, adequado dessas espécies reativas no organismo<sup>33,34</sup>. Com isso, o organismo fica em condições de excesso de agentes oxidantes e deficiência de antioxidante, fazendo com que haja o desequilíbrio redox implicando em perda de funções celulares vitais e instauração de um quadro ou condição orgânica prejudicial para o organismo denominado estresse oxidativo<sup>34</sup>.



**Figura 1-** Conceito de estresse oxidativo baseado no desequilíbrio entre pró-oxidante e antioxidante.

**Fonte: Ferreira, Ferreira e Duarte (2007)**

Radiações ionizantes, metais pesados, tabagismo e ingestão de álcool agem sobre a geração de radicais livres, bem como sobre a atuação dos sistemas de defesa antioxidante, no entanto, ainda não é possível determinar com segurança, sobretudo em humanos, os níveis de exposição que seriam potencialmente nocivos<sup>34,35,36</sup>. Entretanto, estudos têm demonstrado que a frequente realização de exercícios físicos intensos, prolongados e exaustivos configura-se em um dos principais fatores promotores da peroxidação lipídica (PL)<sup>34,35</sup>.

A peroxidação lipídica (PL) compreende-se como um processo de oxidação dos fosfolípidios de membranas celulares e subcelulares e faz parte do metabolismo celular, pois exerce importante função na regulação do processo de renovação das membranas<sup>37</sup>.

Pode também ser conceituada como processo que ocorre em ácidos graxos polissaturados na membrana plasmática e é iniciada por um radical OH que captura um átomo de hidrogênio de um carbono metileno da cadeia polialquil do ácido graxo. Assim, este ácido graxo com um elétron desemparelhado reage com O<sub>2</sub> gerando um radical peróxil que é altamente reativo e pode se combinar com outros radicais semelhantes, propagando os danos às estruturas biológicas<sup>3,38</sup>. Um dos produtos da peroxidação lipídica é o malonaldeído (MDA), um dialdeído altamente reativo que reage com o amino grupo de proteínas, fosfolípidios ou ácido nucléicos, proporcionando modificações estruturais das moléculas biológicas<sup>39</sup>.

A análise da formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é o principal método para quantificar os produtos finais da peroxidação lipídica, utilizada para aferir o estresse oxidativo de tecidos e células<sup>40,41</sup>. A concentração plasmática de CK é um forte indicativo da severidade do exercício físico e seu efeito nos tecidos. Aumento nos níveis desta enzima pode resultar em seu extravasamento para o sangue devido à perda da integridade da membrana celular<sup>42</sup>, correlacionando-se com o estresse oxidativo, uma vez que distúrbios originados pelas EROs podem induzir microlesões e aumento de permeabilidade das membranas biológicas<sup>43</sup>.

Segundo Vancini et al<sup>3</sup> a produção de radicais livres durante o exercício depende de alguns fatores como frequência, intensidade e duração do exercício (aeróbio ou anaeróbio). Pois, diferentes tipos de respostas são desencadeadas pelo estresse oxidativo provocado pelo exercício. Estas respostas são relacionadas com o tipo de tecido estudado e com concentrações de antioxidantes endógenos<sup>44</sup>. Além disso, os danos associados ao estresse oxidativo induzidos pelo exercício intenso estão relacionados com a diminuição do desempenho físico, a presença de fadiga muscular e danos musculares e até à síndrome do *overtraining*<sup>45</sup>, promovendo alteração do sistema imune<sup>46</sup> e do estado de treinamento dos indivíduos<sup>47</sup>. Pode-se observar o aumento das concentrações plasmáticas de CK a ser utilizado, também, como indicador de estresse durante protocolos de esforços predominantemente anaeróbios<sup>48</sup>.

O exercício regular resulta em ajustes, como visto anteriormente, na capacidade antioxidante, as quais protegem as células contra os efeitos deletérios do estresse oxidativo, prevenindo danos celulares subsequentes<sup>49</sup>. Pois, a frequência e a intensidade em que é realizado o exercício físico alteram o balanço entre pró-oxidantes e antioxidantes<sup>6</sup>. Observando assim, que a síntese das enzimas GPx, SOD e CAT não só indica aumento do estresse oxidativo, mas também estimula adaptações nos mecanismos de defesa antioxidante.

Para MCardle et al<sup>51</sup> de acordo com a duração e intensidade do exercício físico ativa sistemas energéticos específicos. Os exercícios são classificados de acordo com sua duração e vias energéticas predominantes, porém torna-se difícil classificar alguns exercícios em determinada categoria em razão do

aperfeiçoamento da aptidão física de um indivíduo, pois um exercício que era classificado como anaeróbio pode ser reclassificado como aeróbio.

Segundo Souza, Fernandes e Cyrino<sup>51</sup>, a prática de exercícios físicos predominantemente aeróbios está associada a danos celulares acarretados pela produção excessiva de radicais livres, dentre os quais se destaca a lesão da membrana celular, representada pelo aumento no extravasamento da enzima citosólica CK para o plasma durante o esforço. E ainda o estresse celular, indicado pelas concentrações plasmáticas de CK, pode provocar danos, atraindo células inflamatórias.

Um importante meio para se evitar possíveis lesões oxidativas e estruturas celulares (lipídios de membranas, proteínas, ácidos nucléicos e outros constituintes celulares)<sup>4</sup> decorrentes do exercício físico é o aumento da atividade de enzimas catalisadoras de reações que neutralizam radicais livres, sendo que a melhor estratégia para aumentar a concentração de antioxidantes endógenos pode ser o estresse oxidativo<sup>52,53</sup>. As EROs produzidas durante o exercício pode ativar vias de sinalização que aumentam a expressão de enzimas antioxidantes<sup>6</sup>.

#### 2.2.2. Danos musculares e estresse oxidativo

De modo geral, os danos musculares ocasionados pelo estresse oxidativo são mais acentuados em indivíduos menos treinados, que realizam exercícios com intensidade e duração além do estado de condicionamento físico<sup>51</sup>. Por outro lado, a adaptação ao treinamento físico pode também ser em parte regulada pela geração de radicais livres<sup>33,50</sup>, já que foi observado que o estresse oxidativo provocado pelo exercício agudo intenso pode ser minimizado pela realização prévia de treinamento com sobrecargas progressivamente ajustadas, antes dos indivíduos serem submetidos ao exercício agudo de alta intensidade<sup>51,52</sup>.

No que se refere a concentração de proteínas plasmáticas através de análises bioquímicas são avaliadas a concentração de proteínas como o lactato, a creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase, creatina, ureia, amônia e a mioglobina, que, normalmente, são incapazes de atravessar a membrana plasmática. Como também, pode-se também aferir hormônios para diagnosticar o estado de treinamento dos atletas<sup>53,54</sup>.

Nesse contexto, é importante destacar que a presença de proteínas e aminoácidos na circulação sanguínea reflete significativa alteração na estrutura e permeabilidade da membrana miofibrilar<sup>55</sup>. O lactato, por exemplo, é um metabólito produzido constantemente em repouso por diversos tecidos do corpo, (intestinos, fígado, hemácias e músculos) e principalmente durante o exercício predominantemente anaeróbio.

Durante o esforço físico, existem inúmeras causas para o aumento da concentração do lactato, como a diminuição do consumo de oxigênio pelas células musculares<sup>56</sup>, glicólise acelerada devido à atividade aumentada das enzimas lactato desidrogenase e fosfofrutoquinase, saturação nos mecanismos de bombas de prótons, aumento da fosforilase devido a maior concentração de cálcio, fosfato inorgânico e adenosina monofosfato<sup>57</sup> e vasoconstrição periférica, diminuindo a oxigenação em diversos tecidos e atenuando a ligação do H<sup>+</sup> ao O<sub>2</sub><sup>57</sup>.

Outra enzima utilizada como biomarcador de estresse e alteração na atividade muscular é a CK. Sua elevação sérica é atribuída a danos teciduais, podendo resultar em aumento da permeabilidade da membrana celular, entre outras consequências, devido à peroxidação lipídica<sup>58</sup>. Tem sido verificado que as concentrações de CK se alteram em resposta a mudanças no volume e intensidade de treinamento<sup>54,59</sup>.

Entretanto, é interessante destacar que os valores de CK têm alterações conforme o período de análise após o exercício. Estudos de Totsuka, et al<sup>60</sup> verificaram que o pico de liberação da CK sérica ocorreu 48 horas após exercício intenso e que 24 horas de repouso não foram suficientes para manifestação do efeito agudo do exercício.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 – GERAL

Analisar o efeito agudo do *RAST TEST* sobre o estresse oxidativo e danos musculares em corredores adolescentes.

#### 3.2 – ESPECÍFICOS

- Determinar a potência e a capacidade anaeróbia dos adolescentes;
- Quantificar a variação na concentração de marcadores de dano muscular CK e LDH após o teste;
- Verificar o efeito do exercício agudo de alta intensidade sobre a concentração plasmática de marcadores de estresse oxidativo pelo teste do TBARS;
- Avaliar a atividade enzimática antioxidante da Gpx;

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética da Universidade Federal de Sergipe (protocolo de pesquisa nº 643.484/2014). A pesquisa caracterizou-se como experimental.

### 4.1 - AMOSTRA

A amostra foi composta por nove adolescentes (sete do sexo masculino e dois do sexo feminino) entre 15 e 18 anos, saudáveis e praticantes de atletismo por pelo menos um ano. Todos os voluntários foram informados sobre os riscos e benefícios envolvidos no estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, bem como os seus respectivos responsáveis legais. Os critérios de exclusão adotados no estudo foram:

- Apresentar doenças crônicas que interferissem na realização do esforço máximo;
- Apresentar lesões osteomiotóricas;
- Ser tabagistas, para não influenciar nas variáveis coletadas.
- Não estar de acordo com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, bem como não o devolver devidamente assinado pelo responsável legal.

Não havendo critérios de exclusão e estando na faixa etária anteriormente descrita, automaticamente os voluntários foram incluídos no estudo. Para a aquisição das informações referentes ao nível de atividade física, foi aplicado o questionário IPAC versão curta.

### 4.2 - PROCEDIMENTOS

Os voluntários foram orientados a não ingerir bebida alcoólica, café, medicação e tampouco realizar exercício físico durante 24 horas antecedentes aos procedimentos experimentais. Os alimentos recomendados para manter uma adequada abstinência, influenciando ao mínimo as variáveis a serem coletadas, foram: chocolate e produtos à base de cacau, açaí, guaraná em pó, chás pretos (mate, ice tea, bebidas energéticas), refrigerantes à base de cola e de guaraná e o café<sup>61</sup>. Para controle do consumo alimentar dos atletas foi realizado o

Recordatório 24h em três dias não consecutivos, seguindo as recomendações da Sociedade Internacional de Nutrição Esportiva (ISSN, 2010)<sup>62</sup>.

Os procedimentos para a avaliação antropométrica e para a realização do teste de aptidão anaeróbia foram executados nesta sequência, sendo que na semana anterior foi realizada uma familiarização do teste de esforço máximo (RAST). Todos os procedimentos envolvidos na realização dos testes e da coleta sanguínea foram realizados no Departamento de Educação Física da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Quanto às análises bioquímicas foram realizados em dois laboratórios do Departamento de Fisiologia da UFS, a saber: Laboratório de Biofísica do Coração (LBC) para análise do CK, LDH e GPx e o Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioquímica (LQPNB) para a análise do TBARS.

Avaliação antropométrica	Familiarização do teste	Coleta de sangue	<i>Rast test</i>	Coleta de sangue
0-7	8-15	16-18		

**Esquema1-** Organograma do protocolo realizado com os 9 atletas: 0-7 dias foi realizada avaliação antropométrica; 8-15 dias de familiarização com o teste experimental; 16-18 dias foi realizado o *Rast test* e a coleta sanguínea pré e pós teste.

#### 4.2.1 - AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Previamente ao protocolo de exercício físico, todos os voluntários passaram por uma avaliação antropométrica, no qual a estatura foi verificada a partir de um estadiômetro da marca Sanny®, o peso a partir de uma balança digital portátil, com capacidade de 150kg e precisão de 100g. Para verificar as medidas das circunferências do abdômen, cintura e quadril, realizadas em três repetições a fim de obter-se a média das mesmas, foi utilizada uma fita métrica da marca Sanny. O percentual de gordura foi verificado através do protocolo de Lohman, coletando-se as medidas das dobras cutâneas do tríceps e subescapular através do compasso da mesma marca.

#### 4.2.2 - PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO

O protocolo de exercício físico realizado foi o *Running Anaerobic Sprint Test (RAST TEST)*, cuja finalidade é avaliar a aptidão anaeróbia daquele que o realiza. Embora tenha uma distância de corrida fixa e pré-estabelecida de 35m, o que desfavorece a especificidade atlética das diferentes modalidades esportivas, sabe-se que é um protocolo bastante utilizado para a avaliação de atletas, principalmente pela facilidade com que é realizado<sup>64</sup>.

Previamente ao teste, os voluntários realizaram um aquecimento de aproximadamente cinco minutos, composto por uma corrida de intensidade leve e “sprints” de 10m. Após o aquecimento, foram reforçadas as orientações gerais do teste e esclarecidas possíveis dúvidas para que os voluntários realizassem adequadamente o teste.

O *RAST TEST* consistiu na realização de seis “sprints” de 35m com intervalos de 10s entre os mesmos. Em cada um dos “sprints” registrou-se o tempo percorrido. As pausas e o início de cada “sprint” foram devidamente informados por estímulo sonoro. Ao iniciar a corrida realizou-se o registro do tempo, sendo imediatamente parado no momento em que o voluntário ultrapassasse o trigésimo quinto metro. Para o adequado controle dos registros dos tempos dos “sprints” e das pausas, foram utilizados três cronômetros digitais (Flix technology®, timex iroman g85, EUA), manipulados por três avaliadores. A distância de 35m foi medida utilizando-se uma trena métrica e os extremos do percurso foram demarcados com cones para facilitar a visualização e o adequado registro dos tempos.

Os parâmetros analisados pela realização do *RAST TEST* foram: potência máxima (o “sprint” de maior potência), potência média (média da potência gerada nos seis “sprints”), a potência mínima, o Índice de fadiga 1 (em Watts/seg).

#### 4.2.3 - COLETA SANGUÍNEA, OBTENÇÃO DO SORO E ARMAZENAMENTO

As coletas sanguíneas foram realizadas no início e imediatamente após ao *RAST TEST*, em uma sala climatizada, por quatro técnicos de enfermagem devidamente treinados e habilitados. Os participantes ficaram na posição sentada, e depois foi feita antissepsia local utilizando-se álcool 70% e algodão. Para obtenção do soro, o sangue foi coletado por punção venosa através do sistema

de coleta a vácuo e contido em tubo (Injex vácuo 4ml) sem anticoagulante. Assim que foram coletadas os 4ml de sangue, separados imediatamente, em tubos de 2ml e, rapidamente, mantidos em isopor com gelo em gel e levados para o LBC no departamento de Fisiologia. A fim de obter-se o soro, o sangue foi centrifugado à 4000 rpm, sob temperatura de 10°C, durante 10 minutos.

#### 4.2.4- MARCADORES DE DANO MUSCULAR

##### 4.2.4.1 - Quantificação da Creatina kinase (CK) e Lactato Desidrogenase (LDH)

A creatina quinase é uma importante enzima reguladora da produção e utilização de fosfato de alta energia nos tecidos contráteis. Ela é encontrada estritamente dentro da musculatura esquelética, cardíaca e cérebro. Sua presença no sangue é utilizada como um marcador de lesão muscular.

Para sua quantificação, foi utilizado as recomendações do fabricante do kit comercial (Labtest ®), onde 20 µL do plasma de cada animal foram homogeneizados em reagentes específicos a  $37 \pm 0,2$  °C e realizado leitura em espectrofotômetro UV/VIS a 340 nm.

O Lactato desidrogenase (LDH), está presente em praticamente todos os órgãos e tecidos do organismo e sua atividade catalítica no soro é devido à presença de várias isoenzimas, que podem formar padrões diferentes, dependendo da origem da LDH presente no soro. Nas condições (prescritas pelo fabricante do teste), o LDH catalisa a conversão do piruvato para lactato, enquanto o NADH é oxidado para NAD<sup>+</sup>. A atividade catalítica é determinada a partir da velocidade de desaparecimento do NADH. Para quantificação foi utilizada as recomendações do fabricante que constavam no Kit comercial (Labtest ®), onde 20 µL do plasma de cada animal foram homogeneizados em reagentes específicos a  $37 \pm 0,2$  °C e realizado leitura em espectrofotômetro UV/VIS a 340 nm.

##### 4.2.4.2 - ESTRESSE OXIDATIVO

###### 4.2.4.2.1 - Determinação de peroxidação (TBARS)

A oxidação de lipídios foi determinada pela medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com método descrito por Lapenna et al. (2001). Alíquotas de 200 µL das amostras (sangue e músculo gastrocnêmio) foram adicionadas a uma mistura formada por partes iguais de

ácido tricloroacético (TCA) 15%, HCl 0,25 N e TBA 0,375%, mais 2,5 mM de hidroxitolueno butilado (BHT), e 40 µL de dodecil de sódio (SDS) a 8,1%, sendo aquecida por 30 min à 95°C em estufa. O pH da mistura foi ajustado para 0,9 com HCl. O BHT foi usado para prevenir a peroxidação lipídica durante o aquecimento. Em seguida, após resfriamento à temperatura ambiente e adição de 4 mL de n-butanol, o material foi centrifugado a 800 x g por 15 minutos a  $\pm 4^{\circ}$  C e a absorbância do sobrenadante foi medida a 532 nm. O coeficiente de extinção molar utilizado foi  $1,54 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  e o resultado de TBARS expresso em nmol Eq MDA.mL<sup>-1</sup> de plasma para as amostras de sangue.

#### 4.2.4.2.2 - DETERMINAÇÃO DA GLUTATIONA PEROXIDASE (GPx)

A determinação da atividade da GPx foi realizada a partir da taxa de decaimento da NADPH, através do kit laboratorial BioAssay Systems' QuantiChrom Gluthathione Assay Kit, específico para medir com precisão a glutathione reduzida em amostras biológicas. O soro foi diluído 20x, misturado com os reagentes de trabalho do kit e incubado 25 minutos à temperatura ambiente. A leitura foi feita em espectrofotômetro UV/VIS com absorbância à 412nm.

#### 4.3- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média  $\pm$ DP. O teste *t Student* para dados pareados foi utilizado para a comparação de cada variável bioquímica pré e pós-teste. Correlação de Pearson foi utilizada entre todas as variáveis, sendo adotado um nível de significância de 5%. O software utilizado para análise dos dados foi o Graph Pad Prism versão 5.0.

## 5. RESULTADOS

Os dados estão apresentados de forma descritiva, enquanto média e  $\pm$  DP sendo sequencialmente organizados em tabelas e figuras a partir das características antropométricas, dos resultados de *performance* do *RAST TEST*, bem como pelos valores de dano muscular e estresse oxidativo. As características antropométricas da amostra estudada estão apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1** - Características antropométricas dos voluntários (média  $\pm$ DP).

Peso (kg)	Estatura (m)	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	RCQ (-)	Gord. Corporal (%)
59,25	1,73	19,57	0,84	12,56
$\pm 11,45$	$\pm 0,06$	$\pm 2,52$	$\pm 0,08$	$\pm 4,01$

IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Relação cintura e quadril.

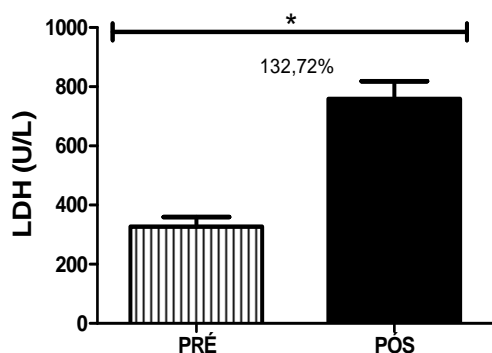
A tabela 2 mostra os valores absolutos, potência pico, potência média, potência mínima e índice de fadiga 1 dos corredores, obtidos pelo teste anaeróbico máximo.

**Tabela 2** – Valores médios da potência pico (PAN-pico), potência média (PAN-média), potência mínima (PAN-min) e índice de fadiga 1 (IF1) dos nove corredores.

PAN-pico (Watts)	PAN-média (Watts)	PAN-mínima (Watts)	IF1 (Watts/seg)
534,77	357,29	285,23	7,01
$\pm 138,89$	$\pm 52,30$	$\pm 104,23$	$\pm 1,53$

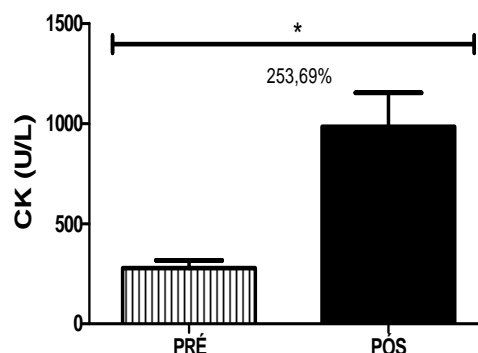
Aumentos foram observados após a realização do *RAST TEST*, tanto para as concentrações de LDH (pré:  $326,0 \pm 72,65$  U/L e pós:  $758,72 \pm 135,09$  U/L; i.é. 132,72%) quanto para da CK (pré:  $278,1 \pm 78,64$  U/L e pós:  $983,62 \pm 339,49$  U/L; i.é. 253,69%) (figuras 2a e 2b).

A



**Figura 2a** - Concentrações plasmáticas de LDH pré e pós teste. \* $p < 0,05$  em relação ao PRÉ.

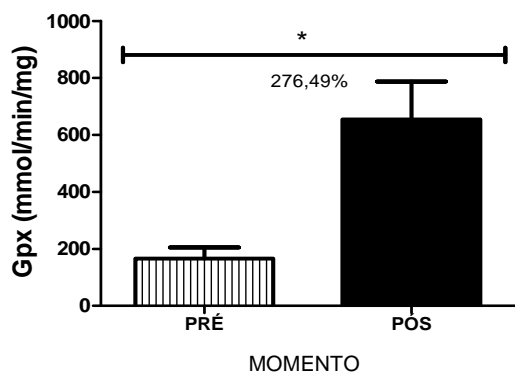
B



**Figura 2b** - Concentrações plasmáticas de CK, pré e pós teste. \* $p < 0,05$  em relação ao PRÉ.

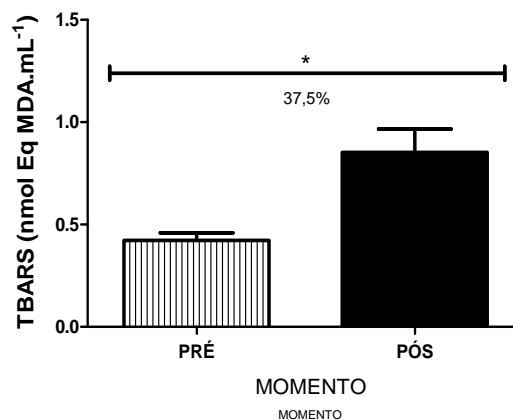
Em relação à enzima antioxidante, o protocolo promoveu um aumento de 276,49% na atividade da glutatona (pré:  $165,84 \pm 87,73$  mmol/min/mg e pós:  $624,38 \pm 297,38$  mmol/min/mg; Figura 3a), com concomitante aumento (37,5%) no estresse oxidativo avaliado pelo TBARS (pré:  $0,48 \pm 0,12$  nmolEq MDA. mL e pós:  $0,66 \pm 0,0$  nmolEq MDA. mL; Figura 3b).

A



**Figura 3a** - Atividade enzimática da GPx, pré e pós teste. \* $p < 0,05$  em relação ao PRÉ.

B



**Figura 3b** - Concentração plasmática de TBARS, pré e pós teste. \* $p < 0,05$  em relação ao PRÉ.

Por fim, no intuito de verificar associações entre as variáveis estudadas, realizou-se uma matriz correlacional, apresentada na tabela 3. A maioria das variáveis apresentadas na tabela 2 e figuras 2 e 3 apresentaram moderadas e altas correlações entre si.

**Tabela 3-** Correlações entre os valores de potência pico (PAN-pic), potência média (PAN-média), potência mínima (PAN-min), índice de fadiga 1 (IF1), índice de fadiga 2 (IF2), com o LDH, a CK, a GPx e o TBARS.

	<b>LDH</b>	<b>CK</b>	<b>GPx</b>	<b>TBARS</b>
<b>PAN-pic</b>	0.60*	0.14	0.84*	-0.94
<b>PAN-med</b>	0.49*	0.03	0.82*	-0.95
<b>PAN-min</b>	-0.71	0.48*	0.68*	-0.69
<b>ÍF1</b>	0.90*	0.48*	0.68*	-0.69

\*p<0,05;

CK: creatina quinase; LDH: lactato desidrogenase; GPx: glutaciona peroxidase; TBARS: ácido tiobarbitúrico.

## 6. DISCUSSÃO

O objetivo geral do presente estudo foi investigar o efeito do *RAST TEST* sobre marcadores bioquímicos: dano muscular e estresse oxidativo em corredores adolescentes. De acordo com os principais resultados, o teste foi suficiente para alterar os níveis séricos de LDH, CK, GPx e TBARS, havendo correlação entre estas e algumas variáveis da aptidão anaeróbia (Tabela 3), contudo, embora tenha ocorrido dano muscular, o mesmo não se pode afirmar para o estresse oxidativo, uma vez que a atividade da GPx aumentou de maneira expressiva, o que contrabalanceou o aumento do TBARS (Figuras 3a e 3b).

Muitos autores têm utilizado o *RAST TEST* para estimar as potências máxima, média, mínima e índice de fadiga<sup>16,64,66</sup>, permitindo assim avaliar anaerobiamente os atletas. A aptidão anaeróbia é um fator determinante de *performance* em provas desportivas em que é requerida a manutenção prolongada de grande potência e capacidade anaeróbia para o fornecimento de energia<sup>2</sup>, sendo um componente essencial para o bom desempenho em algumas modalidades esportivas, pois em determinados momentos, há a exigência de um esforço anaeróbio máximo.

Nesse contexto, a ressíntese de ATP pela via anaeróbia deve ser realizada rapidamente e de maneira eficiente para prevenir a fadiga e manter a contração muscular colaborando para o desempenho do atleta<sup>67</sup>. Vale ressaltar que a potência muscular máxima e a capacidade anaeróbia são altamente dependentes de idade, sexo, características morfológicas e do nível de condicionamento físico<sup>2</sup>, logo, determinar a aptidão anaeróbia torna-se necessário para a adequação do treinamento.

O *RAST TEST* utiliza principalmente o metabolismo anaeróbio, sendo a via anaeróbia alática, ATP-CP (potência), necessária para produzir energia o mais rápido possível sem a necessidade de O<sub>2</sub> e produção de lactato. Os resultados obtidos através do *RAST TEST* (tabela 2) possibilitaram avaliar a potência máxima ou pico, o que bioenergicamente reflete a eficiência em ressintetizar ATP a partir da via ATP-CP. Ainda, outras variáveis foram obtidas com a potência média, que sinaliza a capacidade de ressintetizar ATP pela via anaeróbia lática e o índice de fadiga que interfere na condição de manutenção em que o indivíduo

consegue ressintetizar ATP através do metabolismo anaeróbio, expressando a capacidade de suportar estímulos de alta intensidade sem que haja queda significativa de desempenho<sup>51</sup>. A determinação destas variáveis possibilita uma prescrição segura e adequada de exercício físico, controlando-se as variáveis do treinamento e respeitando a individualidade biológica dos atletas, o que favorece o planejamento de condicionamento físico ao longo da temporada de treinos para melhor assimilação das especificidades de cada desporto<sup>2,66</sup>.

Zagatto *et al*<sup>21</sup> ao avaliarem 17 indivíduos moderadamente ativos em pista de 400m através do *RAST TEST* observaram valores de Pan-Pico (695,4±107,4W) e Pan-média (555,2±77,30W) superiores ao presente estudo Pan-Pico (534,77±138,89) e Pan-média (357,29±52,30), o que pode ser atribuído ao nível de condicionamento dos indivíduos avaliados e a faixa etária diferentes. Já o IF encontrado por Zagatto *et al*<sup>21</sup> foi de 36.01±8.79%, ou seja, inferior aos nossos resultados de 46,62±11,67%, pois quanto menor é o valor de IF maior será a tolerância do atleta ao esforço intenso, e conseqüentemente à fadiga.

Adicionalmente, observou-se que o *RAST TEST* aumentou significativamente os níveis séricos de CK e LDH (Figura 2), corroborando os achados de outros estudos<sup>58,67,68,69,70</sup>, ou seja, sinalizando danos musculares oriundo do teste anaeróbio máximo. Considerando que o *RAST TEST* é um esforço intermitente máximo, a energia necessária para sua realização é prioritariamente a partir das fontes anaeróbias, logo, é capaz de aumentar significativamente após uma hora do exercício os níveis séricos das enzimas marcadoras de danos musculares<sup>5,71</sup>, mesmo que não tenha sido avaliado o pico sérico destas enzimas, que de acordo com a literatura pode ocorrer após 24h do exercício.

Rannou *et al*<sup>68</sup>, Lima *et al*<sup>69</sup> e Vandrúsculo *et al*<sup>72</sup> analisaram as concentrações séricas destas enzimas após a realização de exercício, uma vez que estas são utilizadas enquanto indicador do aumento da permeabilidade celular resultante do dano muscular. Em outro estudo<sup>71</sup> foi observado um aumento significativo de 11,22% na concentração plasmática de CK e 13,16% na concentração de LDH depois do teste de Wingate.

As concentrações plasmáticas de CK e LDH são fortes indicativos da severidade do exercício físico e seu efeito provoca extravasamento para corrente

sanguínea devido à perda da integridade da membrana celular<sup>42</sup>, podendo correlacionar-se com o “ataque” oxidativo uma vez que distúrbios originados pelas EROs podem induzir microlesões e o aumento de permeabilidade da membrana biológica<sup>43</sup>. Estudos têm demonstrado que exercícios de alta intensidade e curta duração elevam a peroxidação lipídica<sup>5,71,73,74</sup>, logo, os biomarcadores de lesão muscular podem ser sugerir o estresse oxidativo. De acordo com os resultados das figuras 2 e 3, valores elevados de CK e de LDH foram observados após o exercício, assim como para o TBARS, semelhantemente ao nível elevado de peroxidação lipídica após exercício agudo encontrado em outro estudo<sup>30</sup>, contudo, também observou-se um elevado aumento da GPx no presente estudo. Tal aumento sinaliza que a “balança” entre antioxidantes e oxidantes após o exercício foi favorável à defesa do organismo, numa ação de se evitar o estresse oxidativo.

No presente estudo houve um aumento de marcadores de dano oxidativo dos corredores adolescentes, uma vez que os valores de TBARS encontraram-se significativamente elevados em relação ao período pré-exercício (Figura 3b). Contudo, não apenas o TBARS aumentou, a GPx também apresentou aumento, e maior que o do TBARS, após o *RAST TEST* (Figura 3a), ou seja, ocorreu um maior aumento da atividade dessa enzima antioxidante, assim como descrito por outros autores que também relataram aumento na atividade das enzimas antioxidantes logo após o *RAST TEST* em adolescentes jogadores de futebol<sup>75</sup>, evitando que ocorresse o estresse oxidativo. Logo, o exercício não foi suficiente para promover um desequilíbrio redox, o que implicaria em perdas de funções celulares vitais e instauração de um quadro de estresse oxidativo<sup>34</sup>, visto que houve um aumento da GPx muito mais elevado que a do TBARS.

De acordo com Deminice et al<sup>76</sup> foi observado aumento significativo de 15% do marcador de estresse oxidativo MDA no plasma ( $1,53 \pm 0,19 \mu\text{mol/L}^{-1}$ ) e um aumento de 11,21% na atividade da enzima antioxidante GPx ( $57,5 \pm 5,3 \text{U/gHb}^{-1}$ ) logo após o *RAST TEST*, similarmente aos nossos resultados, embora o aumento da GPx tenha sido muito maior que o do TBARS no presente estudo (Figuras 3a e 3b). Tais aumentos parecem “desafiar” o sistema antioxidante, logo, se o exercício for realizado regularmente provocará adaptações benéficas ao organismo, pois uma hipótese para o resultado supracitado é que a GPx seja eficiente em altas concentrações de EROs provocado pelo teste<sup>77</sup>. Segundo

Margaritis et al<sup>81</sup>, quanto melhor o VO<sub>2</sub>máx de triatletas mais alta a atividade da enzima antioxidante GPx nos eritrócitos, protegendo o organismo do dano à membrana celular.

Ao correlacionar os parâmetros anaeróbios do *RAST TEST* com os marcadores de dano muscular e de estresse oxidativo (Tabela 3), verificou-se associações entre si, principalmente com os marcadores de estresse oxidativo. Segundo Gladden<sup>78</sup>, a glicólise anaeróbia acelerada aumenta a atividade das enzimas LDH e PFK, à saturação dos mecanismos de bombas de prótons, o aumento da fosforilase devido a maior concentração de cálcio, fosfato inorgânico e adenosina monofosfato<sup>76</sup>, bem como vasoconstrição periférica, diminuindo a oxigenação em diversos tecidos e atenuando a ligação do H<sup>+</sup> ao O<sub>2</sub><sup>79,80</sup>. Possivelmente tal resposta fisiológica possa elucidar a razão pela qual houve correlação inversa entre as potências e o TBARS, ou seja, indivíduos com maiores valores de potência (melhor aptidão anaeróbia) apresentaram menores valores de TBARS, logo, corredores aerobiamente mais preparados (menor aptidão anaeróbia) apresentaram valores de TBARS mais elevados.

De acordo com Finque e Holbrook<sup>82</sup>, a opção mais eficiente para elevar a quantidade de antioxidantes no organismo seria através da indução do próprio estresse oxidativo, estimulando os mecanismos antioxidantes celulares e elevando a resistência a lesões induzidas por exercício físico de alta intensidade<sup>85,86</sup>. Ademais, segundo Leeuwenburgh et al<sup>83</sup>, o estresse oxidativo induzido pelo exercício pode disparar adaptações em tecidos específicos em resposta ao treinamento. Essas adaptações estão relacionadas a uma série de sistemas, dos quais os mais importantes são os sistemas enzimáticos, compostos pela superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase.

No entanto, Palazzetti et al<sup>84</sup> descreveram que atletas em condições de sobrecarga de treinamento, apresentam maiores índices de lipoperoxidação, avaliada pelo nível de substâncias reativas como o ácido tiobarbitúrico (TBARS), CK-MB e mioglobina plasmáticos (marcadores de lesão muscular), além de queda da relação GSH:GSSG (razão glutathione reduzida por dissulfeto de glutathione), indicando claramente que essa sobrecarga compromete os mecanismos de defesa antioxidantes relacionados à resposta induzida pelo exercício. Neste sentido, compreender a sobrecarga imposta ao organismo após treinos e testes

anaeróbios máximos permitem ajustes adequados quanto ao descanso e aos treinos subsequentes, para que não haja comprometimento da defesa antioxidante, perda de rendimento e possível lesão<sup>85</sup>.

Complementarmente, é importante observar alguns indicadores, citados por Silva et al<sup>86</sup>, que podem influenciar no desempenho do atleta, tais como os aspectos do crescimento, amadurecimento biológico, nível de treino prévio adquirido, o esforço percebido durante as sessões e as metas a serem alcançadas, minimizando quaisquer comprometimentos à saúde. Diferentes estratégias para aumentar a capacidade antioxidante e a diminuição de lesão muscular vêm sendo utilizadas em estudos, como a utilização de suplementação, restrições dietéticas e fármacos<sup>5</sup>. Uma estratégia citada por Finkel e Holbrook<sup>82</sup>, como mais eficiente para aumentar a quantidade endógena de antioxidantes, pode ser a maior indução do próprio estresse oxidativo, como fora anteriormente comentado, uma vez que estimularia os mecanismos antioxidantes celulares e aumentaria a resistência a lesões induzidas pelo exercício<sup>59,72</sup>. Contudo, ressalta-se a necessidade de se atentar ao descanso entre as sessões, bem como às variáveis relacionadas ao treinamento, como o volume e intensidade, que devem ser prescritas de forma gradativa e individualizada<sup>4</sup>.

Por fim, muitos estudos têm sido realizados na perspectiva de esclarecer os mecanismos de danos musculares e estresse oxidativo após o exercício, bem como a participação de defesa antioxidante. No entanto, se necessita de estudos complementares que envolvam comparações com exercício de alta intensidade e curta duração, marcadores de lesão muscular e sistema antioxidante com indivíduos da mesma faixa etária estudada no presente estudo, para que se possam estabelecer concentração adequada de intensidade ao exercício físico durante a prescrição do treinamento, particularmente durante a infância e a adolescência.

## 7. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados concluímos que o *RAST TEST* além de adequadamente avaliar a aptidão anaeróbia de atletas adolescentes, promove um aumento significativo de marcadores de dano muscular e aumento das concentrações de TBARS e da atividade da GPx. Contudo, o acentuado aumento na atividade da GPx sugere um eficiente mecanismo de prevenção de danos celulares e evitando, assim, um quadro de estresse oxidativo em atletas adolescentes submetidos ao *RAST TEST*.

## 8- REFERÊNCIAS

1. Perez-Gomez, J, Rodriguez, GV, Ara, I, Olmedillas, H, Chavarren, J, González-Henriquez, JJ, Dorado, C, and Calbet, JAL. Role of muscle mass on sprint performance: gender differences? *Eur J Appl Physiol.* 2008; 102:685–694.
2. De-Oliveira FR, Lima-Silva AE, Nakamura FY, Kiss MAPM, Loch MSG. Testes de pista para avaliação da capacidade láctica de corredores velocistas de alto nível. *Rev Bras Med Esporte*,2006;12(2).
3. Vancinl RL, Lira CAB, Aboulafia J, Nouailhetas VLA. Radical livre, estresse oxidativo e exercício. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Centro de Estudos de Fisiologia do Exercício, 2005.
4. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative Stress: Relationship with exercise and training. *Sports Med.* 2006;36: 327-358.
5. Cruzat VF, Rogeros MM, Borges MC, Tirapegui J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Rev Bras Med Esporte* 2007; 13:336-342.
6. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;222:283-292.
7. Jenkins RR, Goldfarb A. Introduction: oxidant stress, aging, and exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25(2):210-2.
8. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol.* 2004 Jun; 29(3):245-63.
9. Vollaard NB, Shearman JP, Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med.*2005; (35):1045-62.
10. Teodoro BG, Natali AJ; Fernandes AS; Peluzio MCG. A influência da intensidade do exercício físico aeróbio no processo arteriosclerótico. *Rev Bras Med Esporte, Viçosa,* 2006;16(5):382-87.
11. Bacurau, RFP, Rosa, LFBPC. Produção de Espécies Reativas de Oxigênio Durante a Atividade Motora e Mecanismos de Defesa. In: LANCHETA, JR A.H. *Nutrição e Metabolismo aplicados à atividade motora.* São Paulo: Atheneu, 2004. cap. 6, p.131-154.
12. Bar-Or O. The Wingate anaerobic test: An update on methodology, reliability and validity. *Sports Med.* 1987;4:381–394.

13. Beneke R, Pollmann C, Bleif I, Leithauser RM, Hütler M. How anaerobic is the Wingate anaerobic test for humans. Eur J Appl Physiol. 1983; 51:409–417. Physiol 87: 388–392, 2002.
14. Nummela A, Alberts M, Rijntjes RP, Luhtanen P, and Rusko H. Reliability and validity of the maximal anaerobic running test. Int J Sports Med 17:S97–S102, 1996.
15. Cracco Junior UD. Comportamento da curva de lactato sanguíneo após a realização do rast-test [Monografia]. Lins: UNISALESIANO. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Treinamento Personalizado e Musculação, Centro Universitário Católico Salesiano *Auxilium*. 2010.
16. Balciunas M, Stonkus S, Abrantes C, Sampaio J. Long term effects of different training modalities on power, speed, skill and anaerobic capacity in young male basketball players. J Sports Sci Med; 2006; (5):163–170.
17. Hawley JA, Williams MM. Relationship between upper body anaerobic power and freestyle swimming performance. Int J Sports Med. 1991;12: 1–5.
18. Vandewalle H, Peres G, and Monod H. Standard anaerobic exercise tests. Sports Med. 1987;4:268–289.
19. Lima MCS. Standardization of the tethered running in sprint athletes: Analysis of relation between power and performance in running. Master's thesis, Sao Paulo State University, Rio Claro, Brazil, 2007.
20. Roseguini AZ, Adelino SRS, Claudio AG. Determinações e Relações dos Parâmetros Anaeróbios do RAST, do Limiar Anaeróbio e da Resposta Lactacidêmica Obtida no Início, no Intervalo e ao Final de uma Partida Oficial de Handebol. Rev Bras Med Esporte. 2008,4(1).
21. Zagatto AM, Beck WR, Gobatto CA. validity of the running Anaerobic sprint test for assessing Anaerobic power and predicting short-distance performances. Journal of Strength and Conditioning Research. 2009;23(6).
22. Macena RHM. Contribuição da educação física na produção de conhecimento sobre a prática de atletismo na infância e na adolescência disponível em bases virtuais. Educação Física em Revista, 2011;5(1):01-20.
23. Wilmore JH, Costill DL. Basic energy systems. In: Wilmore JH, Costill DL. *Physiology of sport and exercise*. Champaign: Human Kinetics, 1994. p.92-121.
24. McArdle WD, Katch FL, Katch V. Transferência de energia no exercício. In: McArdle WD, Katch FL, Katch V. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e*

- desempenho humano. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p.80-93.
25. Fox EL, Bowers RW, Foss ML. Fontes de energia. In: Fox EL, Bowers, RW, Foss ML. *Bases fisiológicas da Educação Física e dos Desportos*. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.10-27.
  26. Roggato GG. Perfil metabólico durante o exercício físico: influência da intensidade e da duração e da duração do esforço sobre a utilização de substratos energéticos. *Revista Digital*. [periódico na internet] 2002 Nov [acesso em 2015 Jan]. Disponível em: <http://www.efdeportes.com>.
  27. Córdova A, Navas FJ. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. *Rev Bras Med Esporte*. 2000; 76:169-75.
  28. Schneider CD, Oliveira AR. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte, Porto Alegre*. 2004;10(4):308-313.
  29. Barja de Quiroga G. Brow fat thermogenesis and exercise: two examples of physiological oxidative stress? *Free Radic Biol Med* 1992;13:325-40.
  30. Fenster CP, Weinsier RL, Darley-Usmar VM, Patel RP. Obesity, aerobic exercise, and vascular disease: the role of oxidant stress. *Obes Res* 2002;10:964-8.
  31. Signorini JL, Signorini SL. *Atividade física e radicais livres: aspectos biológicos, químicos, fisiopatológicos e preventivos*. São Paulo: Editora Ícone, 1995.
  32. Martins MN. Avaliação do estresse oxidativo e do estado redox mitocondrial na hepatotoxicidade induzida pela cisplatina em ratos Wistar: efeito protetor da dimetilurtéria. Ribeirão Preto, 2007.
  33. Niess AM, Dickhuth HH, Northoff H, Fehrenbach E. Free radicals and oxidative stress in exercise--immunological aspects. *Exerc Immunol Rev*. 1999;5:22-56.
  34. Cooper CE, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans*. 2002; 30: 280-285.
  35. Ribeiro SMR, De Queiroz JH, Pelúzo MCG, Costa NMB, Da Matta SLP, De Queiroz MELR. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. *Biosci. J. Uberlândia*. 2005;21(3):133-149.
  36. Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas CMB, Alfenas RCG, DE Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nutr, Campinas*, 23(4):629-643, jul./ago; 2010.

37. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radical in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: University Press, 1999.
38. Gaté L, Paul J, Ba GN, Tew KD, Tapieros H. Oxidative stress induced in pathologies: the role of oxidants. *Biomed Pharmacother* 1999; 53:169-80.
39. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Ver.* 2002, 82: 47-95.
40. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry.* 1995; 41(12):1819 -1828.
41. Scoccia AE, Molinuevo MS, McCarthy AD, Coortizo AMA. simple method to assess the oxidative susceptibility of low density lipoproteins. *BMC Clinical Pathology.* 2001; (1): 1 - 5.
42. Chevion S, Moran DS, Heled Y, Shani Y, Regev G, Abbou B, Berenshtein E, Stadtman ER, Epstein Y. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2003;100(09): 5119-5123.
43. Neto A, Ferreira JM, Paula LB. Índices de estresse oxidativo em sujeitos com diferentes níveis de composição corporal e aderência a prática de Atividade física. *Brazilian journal of biomotricity.* 2011; 5(2):117-131.
44. Liu J, Yeo HC, Overvik-Douki E, Hagent, Doniger SJ, Chyu DW, Brooks GA, Ames BN. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol.* 2000; 89(1): 21-8.
45. Koing D, Wagner KH, Elmadfa I, Berg A. Exercise and oxidative stress: significance of antioxidants with reference to inflammatory, muscular, and systemic stress. *Exerc Immunol Rev* 2001;7: 108-33.
46. Vider J, Lehtmaa J, Kullisaar T, Vihalemm T, Zilmer K, Kairance C et al. Acute immune response in increased myocardial oxidative stress. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23: 67-74.
47. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise,* Hagerstown. 2000; 32:1576-1581.
48. Souza Jr TP, Oliveira PR, Pereira B. Efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. *RBME.* 2005;11(1): 91-6.

49. Lamprecht M, Greilberger J, Oettl K. Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition*. 2004;20(7-8):728-30.
50. Mcardle A, Pattwell D, Vasilaki A, Griffiths RD, Jackson MJ. Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;280(3):621-7.
51. De Souza CF, Fernandes CF, Cyrino ES. Produção de espécies reativas de oxigênio durante o exercício aeróbio e anaeróbio. *Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum*. 2006; 8(2):102-109.
52. Aguiló A, Tauler P, Pilar Guix M, Villa G, Cordova A, Tur JA, Pons A. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem* 2003;14:319-25.
53. Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga S, Ji LL, Ohno H. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J appl Physiol*. 2001; 84:1-6.
54. Heath GW, Hagberg JM, Ehsani AA., Holloszy JO. A physiological comparison of young and older endurance athletes. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda. 1981;51:634-40.
55. De Araujo GG, Gabatto CA, Hirata RDC, Hirata RDC, Hirata, MH, Clavaglieri, CR, Varlengia, R. Respostas fisiológicas para detectar o *overtraining*. *R. da Educação Física/UEM Maringá*. 2008;19(2): 275-289.
56. Van Der Meulen JH, Kuipers H, Drukker J. Relationship between exercise induced muscle damage and enzyme release in rats. *Journal of Applied Physiology*. 1991;71(03): 999-1004.
57. Armstrong, R.B. Muscle damage and endurance events. *Sports Medicine*, Gewerbestrasse. 1986; 3(5): 370-381.
58. Yamamoto Y, Mutho Y, Miyashita M. Hematological and biochemical indices during the tapering period of competitive swimmers. In: *Swimming and Science*, Champaign: Human Kinetics, 1988. p. 243-49.
59. Olkoski MM, Fuke K, Matheus SC, Soares FAA; Portella R, Rosa EJF, Barcelos R, Bottaro M. Respostas bioquímicas e físicas ao treinamento realizado dentro e fora da água em atletas de futsal. *Motriz*, Rio Claro. 2013. 19(2):432-440.
60. Totsuka M, Nakaji S, Suzuki K, Sugawara K, Sato K. Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. *Acta Physiology Scandinavian*, Oxford. 2002; 93(4):1280-1286.

61. Santos JL, Lima CA, Araujo SS, Santos RM, Estevan CS, Freire JMM. Ergogenic effects of caffeine in priority Anaerobic exercise. *Brazilian Journal of Biomotricity*. 2013; 7:109-116.
62. Richard B Kreider, Wilborn Colin D, Taylor Lem, Campbell Bill, Almada Anthony L, Collins Rick, Cooke Mathew, Earnest Conrad P, et al. ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2010; 7(7):1-43.
63. Lopes Dos Santos J ; Lima CA. ; Araujo Silvan S ; Almeida ECV; Dantas REA; Marçal AC; Estevan CS. Protective Effect of a Hydroethanolic Extract from *Bowdichia virgilioides* on Muscular Damage and Oxidative Stress Caused by Strenuous Resistance Training in Rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2014.
64. Zacharogiannis E, Paradisis G, Tziortzis S. An evaluation of tests of Anaerobic power and capacity. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:S116.
65. Lapenna D, Ciofani G, Pierdomenico SD, Giamberardino MA, Cuccurullo F: Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxidase in human plasma: . *Free Rad Biol Med* 2001 31:331-335.
66. Pellegrinotti IL, Daniel JF, Cielo FBL, Cavaglieri CR, Neto JB, Montebelo MIL, Cesar, MC. Análise da potência anaeróbia de jogadores de futebol de três categorias, por meio do “teste de velocidade para potência anaeróbia” (tvpa) do running based Anaerobic sprint test (rast). *Revista eletrônica da Escola de Educação física e Desportos*. 2008;4(2):3-15.
67. Barbero-Álvarez JC, Gimenez L, Corona P, Manonelles P. Necesidades cardiovasculares y metabólicas del fútbol-sala: analisis de la competición. *Apunts: Educación física y deportes, Barcelona*. 2002; (67):45-53.
68. Rannou F, Prioux J, Zouhal H, Gratas-Delamarche A, Delamarche P. Physiological profile of handball players. *J Sports Med Phys Fitness* 2001;41:349-53.
69. Lima EV. Estudo da correlação entre a velocidade de reação motora e o lactato sanguíneo, em diferentes tempos de luta no judô. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2004; 10(5): 339-343.
70. Hammouda O, Chtourou H, Chaouachi A, Chahed H, Ferchichi S, Kallel C, Chamari K, Souissi N. Effect of short-term maximal exercise on biochemical markers of muscle damage, total antioxidant status, and homocysteine levels in football players. *Asian J Sports Med*. 2012 Dec;3(4):239-46.
71. Clarkson PM, Tremblay I. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in human. *J Appl Physiol*. 1988; 65:1-6.

72. Vendrúsculo AP. Análise de lesão muscular e comportamento do  $VO_2$  máx entre um programa de treinamento de corrida em piscina funda e corrida em terra: 2001-2005. Dissertação de Mestrado- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
73. Berzosa C, Cebrian I, Fuentes-Broto L, Gomez-Trullen E, Piedrafita E, Martínez-Ballarín E, et al. Acute Exercise Increases Plasma Total Antioxidant Status and Antioxidant Enzyme Activities in untrained men. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011;2011:540458. doi: 10.1155/2011/540458.
74. Mastaloudis A, Leonard S, Traber M. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol*. 2001; 10(9):11-22.
75. Sureda M, Ferrer D, Tauler P, Romaguera D, F Drobnic F, P Pujol<sup>3</sup>, Tur J A, Pons A et al., "Effects of exercise intensity on lymphocyte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and antioxidant defences in soccer players," *British Journal of Sports Medicine*. 2009;43(3):186–190.
76. Deminice R, Rosa FT, Franco GS, Jordao AA , De Freitas EC. Effects of creatine supplementation on oxidative stress and inflammatory markers after repeated-sprint exercise in humans. *Nutrition*. 29 (2013) 1127–1132.
77. Tromm CB, Da Rosa GL, Bom K, Mariano I, Pozzi B, Tuon T et al. Efeito de diferentes frequências semanais de treinamento sobre parâmetros de estresse oxidativo. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum*. 2012; 14(1):52-60
78. Gladden LB. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *The Journal of Physiology*, Baltimore, v. 1, no. 558(Pt 1), p.5-30, 2004.
79. Nielsen, HB, Clemmesen, JO, Skak C, Ott P, Secher NH. Attenuated hepatosplanchnic uptake of lactate during intense exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, Md., US. 2002; 92(4):1677-83.
80. Shulman RG. Glycogen turnover forms lactate during exercise. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, Hagerstown, 2005, 33(4):157-162.
81. Margaritis I, Tessier F, Richard MJ, Marconnet P. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int J Sports Med*. 1997;18(3): 186-90.
82. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, Oxford, 2000;408:239-247.
83. Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am J Physiol*. 1997;272(1 Pt 2):R363-9.

84. Palazzetti S, Richard M-J, Favier A, Margaritis I. Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Can J Appl Physiol.* 2003;28:588-604.
85. Zoppi CC, Antunes-Neto J, Catanho FO, Goulart LF, Motta e Moura N, Vaz de Macedo D. Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. *Ver. Paul. Educ. Fís.* 2003,17(2):119-30.
86. Silva ASR, Santhiago V, Papoti M, Gobatto C. Comportamento das concentrações séricas e urinárias de creatinina e uréia ao longo de uma periodização desenvolvida em futebolistas profissionais: Relações com a taxa de filtração glomerular. *Rev Bras Med Esporte.* 2006; 12: 327-32.

**APÊNDICE**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA  
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA  
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

***TÍTULO DA PESQUISA: O efeito agudo do rast test sobre o estresse oxidativo e os marcadores indiretos de dano muscular em corredores adolescentes.***

Pesquisador (a): Patrícia Morgana Ferreira Santos Tel: (79) 32364406

*Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa. Sua colaboração neste estudo será de muita importância, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.*

O participante da pesquisa fica ciente:

- I) Que esse termo deverá ser assinado pelo responsável;**
- II) Objetivo:** Investigar o efeito da suplementação da vitamina C / E como antioxidantes e atenuadoras do dano muscular em corredores adolescentes.
- III) O voluntário da pesquisa tem a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação, sem penalização nenhuma e sem prejuízo a sua saúde ou bem estar físico;**
- V) O participante não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária;**
- VI) Benefícios:** possibilitar aos participantes a prescrição de treinos mais eficientes, além de nos possibilitar conhecimentos sobre os efeitos da suplementação no estresse oxidativo e nos danos musculares decorrente de um treinamento de alta intensidade.

**VII)** Riscos: Devido a intensidades do treinamento, será recrutado apenas sujeitos que não tenham histórico de lesões que possam ser agravados pelo treino, como lesões recentes e/ou não completamente curadas nos joelhos, ombro e coluna. Um dos possíveis desconfortos são as dores musculares pós-exercício, sintomas que amenizam após alguns dias. Todos os dados serão anônimos.

**VIII)** As informações serão coletadas através de testes e questionário que deverá ser respondido pelos entrevistados, essas informações serão utilizadas apenas para fins científicos, não sendo divulgada qualquer informação que possa levar a identificação dos entrevistados.

Os danos materiais, morais e /ou físicos para o participante da pesquisa serão praticamente nulos, mas caso ocorram, serão tomadas todas as medidas necessárias para corrigi-los ou pelo menos amenizá-los, como a exclusão do participante da pesquisa.

**IX)** Os dados obtidos durante a pesquisa serão mantidos em sigilo pelos pesquisadores, assegurando ao participante ou voluntário a privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa;

**X)** Os resultados poderão ser divulgados em publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais;

**XI)** Durante a realização da pesquisa, serão obtidas as assinaturas dos participantes da pesquisa e do pesquisador, também, constarão em todas as páginas do TCLE as rubricas do pesquisador, do participante da pesquisa e do seu respectivo responsável;

**XII)** Caso o participante da pesquisa desejar, poderá pessoalmente, ou por meio de telefone, entrar em contato com o pesquisador responsável para tomar conhecimento dos resultados parciais e finais desta pesquisa.

*Eu, \_\_\_\_\_, residente e domiciliado na \_\_\_\_\_, portador da Cédula de identidade, RG \_\_\_\_\_, e inscrito no CPF \_\_\_\_\_ nascido (a) em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_, abaixo assinado, declaro que obtive todas as informações*

*necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas. Desta forma concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário (a) do estudo acima descrito.*

- ( ) Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.  
( ) Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

Aracaju, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

**Assinatura do participante:** \_\_\_\_\_

**Assinatura do responsável:** \_\_\_\_\_

## ANEXO

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE  
FÍSICA – VERSÃO CURTA -

Nome: \_\_\_\_\_  
Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Idade : \_\_\_\_ Sexo: F ( ) M ( )

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação à pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são **MUITO** importantes. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação!

Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez:

**1a** Em quantos dias da última semana você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias \_\_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**1b** Nos dias em que você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** quanto tempo no total você gastou caminhando **por dia**?

horas: \_\_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

**2a.** Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar volei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar **moderadamente** sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**)

dias \_\_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**2b.** Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por **pelo menos 10 minutos contínuos**, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**?

horas: \_\_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

**3a** Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

dias \_\_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**3b** Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: \_\_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**



Referente à \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**RECORDATÓRIO DE 24hs**

REFEIÇÕES/ HORÉRIO	ALIMENTOS/PREPARAÇÕES	QUANTIDADES (MEDIDAS CASEIRAS)