UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI - UFVJM

SILVIA MOURÃO MAGALHÃES

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXERCÍCIO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O EQUILÍBRIO REDOX SANGUÍNEO EM HOMENS SEDENTÁRIOS.

DIAMANTINA - MG

2014

SILVIA MOURÃO MAGALHÃES

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXERCÍCIO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O EQUILÍBRIO REDOX SANGUÍNEO EM HOMENS SEDENTÁRIOS.

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, área de concentração Ciências Fisiológicas, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientadora: Prof[a]. Dr[a]. Etel Rocha Vieira - UFVJM

Co-orientador: Prof. Dr. Fabiano Trigueiro Amorim - UFVJM

DIAMANTINA - MG

2014

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

M188a	Magalhães, Silvia Mourão Avaliação do efeito do exercício intervalado de alta intensidade sobre o equilíbrio redox sanguíneo em homens sedentários / Silvia Mourão Magalhães. – Diamantina, 2014. 74 p. : il. Orientador: Etel Rocha Vieira Coorientador: Fabiano Trigueiro Amorim Dissertação (Mestrado – Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas) - Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 1. Exercício agudo. 2. Equilíbrio redox. 3. Treinamento intervalado de alta intensidade. I. Título II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. **CDD 613.71**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

SILVIA MOURÃO MAGALHÃES

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXERCÍCIO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE SOBRE O EQUILÍBRIO REDOX SANGUÍNEO EM HOMENS SEDENTÁRIOS

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, área de concentração Ciências Fisiológicas como pré-requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

COMISSÃO EXAMINADORA

_____

Prof.ª Dr.ª Etel Rocha Vieira - UFVJM

_____

Prof. Dr. Fabiano Trigueiro Amorim - UFVJM

_____

Prof. Dr. Harriman Aley de Morais - UFVJM

_____

Prof. Dr. Hércules Ribeiro Leite - UFVJM

_____

Prof. Dr. José Carlos de Magalhães - UFSJ

Aprovada em 14/08/2014

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela graça do mestrado que me foi concedida, saúde, força, por sempre me abençoar e cuidar de mim nos meus momentos de dificuldades.

A minha orientadora Profª. Drª. Etel Rocha Vieira e ao meu Co-orientador Prof. Dr. Fabiano Trigueiro Amorim, pela oportunidade de aprender e crescer pessoal e profissionalmente e também pelos ensinamentos, paciência e compreensão com que orientaram este trabalho. Obrigada pelos exemplos de profissionalismo, postura e ética.

Ao Prof. Dr. Flávio de Castro Magalhães, pelas ideias e ensinamentos.

Aos meus pais, Adélio e Adirailda, por me incentivarem sempre, pelo carinho e por acreditarem sempre nos meus sonhos. Obrigada minha mãe pelas orações e por ser meu alicerce nos momentos de dificuldades. Ao meu, pai pela atenção e carinho, sempre me trazendo um lanche durante tarde.

Aos meus irmãos, André, Sinara, Juliana e Janette, por sempre acreditarem, apoiarem e zelarem por mim. Ao André, meu compadre e incentivador que foi o primeiro a dizer "a Sílvia deve fazer sua graduação em uma universidade federal". À Sinara pela sua generosidade e por cuidar de mim nos momentos de maior dificuldade da nossa família. À Juliana, sempre atenciosa e carinhosa e à Janette, querida companheira de profissão.

Ao Rogério, meu namorado, por sua paciência, tolerância e compreensão, sempre ouvindo os meus desabafos e me apoiando nos momentos difíceis. O seu amor, carinho e apoio foram fatores de grande importância e aos quais dou muito valor.

As minhas avós Gininha e Djanira, pelas orações e palavras de incentivo.

Aos que se mostraram muito mais que simples companheiros de pesquisa ou de trabalho, aos amigos que conquistei durante a realização deste mestrado: Paulinha, Karine, Rosalina, Vinícius, Mariana. Aos pangarés, Dirceu, Sueli, Camila, Lidiane, Lauane, Maria Cecília e as pregas Liliane, Nayara e Talita.

Aos colegas do LABIMUNO, agradeço pelos momentos de convivência e aprendizado.

Aos professores do Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas da UFVJM: Adriana Esteves, pelas orientações sobre o registro alimentar, e ao Gustavo Brito pela realização dos experimentos no laboratório de imunologia.

A Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, pela oportunidade de realizar esta pesquisa.

Ao Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas e à Sociedade Brasileira de Fisiologia.

A CAPES, pela concessão da bolsa.

Aos voluntários, por cederem parte do seu tempo, dando o máximo para que tudo saísse da melhor maneira possível. Obrigado pela inestimável dedicação, persistência e disponibilidade.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada. Que Deus os abençoe, esteja sempre ao lado de cada um, proporcionando-lhes, momentos de alegria e paz.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito agudo e crônico do exercício intervalado de alta intensidade sobre o estado redox sanguíneo de homens sedentários. Para isso, o estudo foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa 17 indivíduos sedentários foram submetidos a uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade (HIIE, do inglês *high intensity interval exercise*), no cicloergômetro, composta por 8 estímulos, a 90% da potência máxima, intercalados por 75 segundos de recuperação ativa a 30 watts. Antes e, imediatamente, após o exercício amostras de sangue foram coletadas para a avaliação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e da capacidade antioxidante total do plasma; e a concentração de TBARS e atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), no lisado eritrocitário. Agudamente, o HIIE não alterou a concentração plasmática de TBARS, embora a capacidade antioxidante total do plasma tenha sido significativamente menor (p=0,05) imediatamente após o exercício. Nós eritrócitos, a concentração de TBARS foi significativamente menor (p=0,03), enquanto a atividade da SOD foi significativamente maior (p=0,04), imediatamente após o exercício. Na segunda etapa 9 indivíduos, que participaram do HIIE, foram submetidos a um programa de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês *high intensity interval training*), 3 vezes por semana, durante 4 semanas (12 sessões de treinamento). Parâmetros do estado redox foram avaliados antes e ao final do treinamento. O HIIT aumentou (p=0,05) a capacidade antioxidante total do plasma, e, nos eritrócitos, a concentração de TBARS foi menor (p=0,03) e a atividade da catalase foi maior (p=0,04) após o treinamento. As modificações do estado redox sanguíneo alcançadas em curto prazo com o programa de HIIT utilizado neste estudo podem ser consideradas uma resposta benéfica adicional para a esta modalidade de treinamento, e neste contexto o HIIT pode ter um papel terapêutico nas condições clínicas decorrentes ou associados a um quadro de desequilíbrio redox.

Palavras-chave: Exercício agudo. Equilíbrio redox. Treinamento intervalado de alta intensidade.

ABSTRACT

This study evaluated the acute and chronic effects of high intensity interval exercise on blood redox state of sedentary men. For this, the study was divided into two moments. First, 17 sedentary subjects underwent a session of high intensity interval exercise (HIIE), on a cycle ergometer, consisting of 8 stimuli, at 90% of maximum power, with intervals of active recovery of 75 seconds, at 30 watts. Before and immediately after exercise, blood samples were collected to evalute plasma thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) concentration and plasma total antioxidant capacity; and TBARS concentration and activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), at erythrocyte lysate. Acutely, HIIE did not alter plasma TBARS concentration, although plasma total antioxidant capacity was significantly lower (p=0,05) immediately after exercise. In erythrocytes, TBARS concentration was significantly lower (p=0,03), while SOD activity was significantly higher (p=0,04) immediately after exercise. In the second moment, 9 individuals, who participated in HIIE, underwent a high-intensity interval training (HIIT) program, 3 times a week, during 4 weeks (12 training sessions). Redox state parameters were evaluated before and at the end of training. HIIT increased (p=0,05) plasma total antioxidant capacity and, in erythrocytes, TBARS concentration was lower (p=0,03) and catalase activity was higher (p=0,04) after training. Changes on blood redox state promoted by HIIT can be considered an additional beneficial response to this type of training, and HIIT may have a therapeutic role in clinical conditions associated with redox imbalance.

Keywords: Acute exercise. Redox balance. High intensity interval training.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 01 - Peroxidação lipídica..... 22

FIGURA 02 - Etapas do estudo..... 32

FIGURA 03 - Ilustração do comportamento da potência e número de estímulos durante uma sessão de HIIE..... 37

FIGURA 04 - Efeito agudo do exercício intervalado de alta intensidade sobre o estado redox nos eritrócitos..... 46

FIGURA 05 - Efeito do treinamento intervalado de alta intensidade sobre o estado redox nos eritrócitos..... 49

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Protocolo de Treinamento..... 39

Tabela 02 - Características físicas e fisiológicas dos voluntários da sessão aguda de HIIE..... 44

Tabela 03 - Efeito agudo do exercício intervalado de alta intensidade sobre o estado redox plasmático..... 45

Tabela 04 - Características físicas e fisiológicas dos voluntários que realizaram o treinamento intervalado de alta intensidade..... 47

Tabela 05 - Efeito crônico do exercício intervalado de alta intensidade sobre o desempenho físico, consumo máximo de oxigênio estimado e frequência cardíaca..... 48

Tabela 06 - Efeito crônico do exercício intervalado de alta intensidade sobre o equilíbrio redox plasmático..... 48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
ACSM	*American college of sports medicine*
ADP	Adenosina difosfato
AP-1	Activator protein 1
BSA	*Bovine serum albumin*
C	Citosina
°C	Graus celsius
Cm	Centímetro
Bpm	Batimentos por minuto
CAT	Catalase
Cu,Zn-SOD	Superóxido dismutase cobre/zinco
CV	Coeficiente de variação
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DTPA	*Diethylene triamine pentaacetic acid*
EC	*Enzyme commission number*
EDTA	*Ethylenediamine tetraacetic acid*
EROS	Espécies reativas de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
FC	Frequência cardíaca
Fe^{2+}	Íon ferroso

Fe^{3+}	Íon férrico
$FeCl_3$	Cloreto férrico
$FeSO_4$	Sulfato ferroso
FRAP	*Ferric reducing ability of plasma*
g	Força da gravidade
G	Guanina
GLUT-4	Transportador de glicose 4
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
H	Hora
HIIE	Exercício intervalado de alta intensidade (*high intensity interval exercise)*
H_2O	Água
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
HIIT	Treinamento intervalado de alta intensidade (*high intensity interval training)*
IMC	Índice de massa corporal
Kg	Quilograma
Km	Quilômetro
Labimuno	Laboratório de Imunologia
Log	Logaritmo
M	Molar
m	Metro

M^2	Metro ao quadrado
MAPK	*Mitogen activated protein kinases*
MDA	Malonaldialdeído
MET	*Metabolic equivalentes*
mg	Miligrama
mL	Mililitro
Min	Minuto
mM	Milimol
MnSOD	Superoxido dismutase manganês
N	Número amostral
N°	Número
$NADP^+$	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidado
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
NF-κB	*Nuclear factor kappa B* (fator nuclear κB)
nmol	Nanomol
$NO^{\bullet}$	Óxido nítrico
O_2	Oxigênio molecular
$O_2^{\bullet-}$	Ânion superóxido
$OH^{\bullet}$	Radical hidroxil
$ONOO^-$	Peroxinitrito
PARQ	Questionário de prontidão para atividade física
PGC-1α	*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*
pH	Potencial hidrogêniônico

Pós-ex	Pós exercício
Pós-treino	Pós treinamento
Pré-ex	Pré exercício
Pré-treino	Pré treinamento
PSE	Percepção subjetiva de esforço
R^2	Regressão
RPE	Ressonância paramagnética de elétrons
RPM	Rotações por minuto
S	Segundo
SOD	Superóxido dismutase
T	Timina
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid reactive substances*)
TEAC	Capacidade antioxidante em equilivante de Trolox
TPTZ	Tripiridiltriazina *(2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine)*
U	Unidade
µg	Microgramas
µL	Microlitro
USA	*United States of America*
ΔE	Variação da atividade da enzima durante um minuto
VO_2max	Consumo máximo de oxigênio
VSAQ	*Veterans specific activity questionnaire*

W	Watts
8-OH-dG	8-hidroxi-2-desoxiguanosina

SUMÁRIO

1 Introdução..... 17

2 Revisão de Literatura..... 19

2.1 Espécies reativas de oxigênio e o sistema de defesa antioxidante..... 19

2.2 Desequilíbrio redox induzido pelo exercício..... 25

2.3 O papel dos EROS produzidos durante o exercício – adaptações ao treinamento..... 28

2.4 O treinamento intervalado de alta intensidade..... 29

3 Objetivos..... 31

4 Material e métodos..... 32

4.1 Voluntários e aspectos éticos..... 33

4.2 Avaliações físicas e fisiológicas dos voluntários..... 33

4.2.1 Avaliação antropométrica..... 33

4.2.2 Determinação do consumo máximo de oxigênio e da potência máxima..... 34

4.2.3 Teste em cicloergômetro de intensidade autorregulada de 15 km..... 36

4.3 Exercícios experimentais..... 37

4.3.1 Sessão aguda de exercício intervalado de alta intensidade (HIIE)..... 37

4.3.2 Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT)..... 38

4.4 Análise dos parâmetros do estado redox plasmático..... 39

4.4.1 Medida da concentração plasmática de TBARS..... 40

4.4.2 Medida da capacidade antioxidante total plasmática..... 40

4.5 Análise de parâmetros do estado redox eritrocitário..... 41

4.5.1 Preparo do lisado eritrocitário..... 41

4.5.2 Medida da concentração de TBARS no lisado eritrocitário..... 41

4.5.3 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase..... 42

4.5.4 Determinação da atividade da enzima catalase..... 42

4.6 Dosagem de proteínas..... 42

4.7 Análise estatística..... 43

5 Resultados..... 44

6 Discussão..... 50

7 Conclusão..... 56

Referências Bibliográficas..... 57

Apêndice..... 71

Anexos..... 72

1 INTRODUÇÃO

É sabido que a geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) ocorre como consequência do metabolismo celular normal (KNIGHT, 1999). Estas espécies reativas são essenciais para algumas importantes funções fisiológicas (BURKE; WOLIN, 1987). Contudo, em altas concentrações as EROS podem reagir com as biomoléculas tornando-as instáveis e inibindo a sua função fisiológica (RADAK et al., 2001; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009). É função do sistema de defesa antioxidante, composto por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, neutralizar as EROS e assim impedir/minimizar sua ação citotóxica (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

O equilíbrio entre a produção das EROS e o sistema de defesa antioxidante determina o estado redox intracelular, que representa o potencial de oxidação/redução presente na célula (ALLEN; TRESINI, 2000; VALKO et al., 2007). A geração de espécies reativas pode aumentar sob ambas condições fisiológicas e não fisiológicas, desencadeando o desequilíbrio redox que ocorre quando há uma excessiva produção de EROS e uma neutralização não adequada pelo sistema antioxidante (HALLIWELL; CROSS, 1994).

O exercício físico agudo é uma condição conhecida por desencadear estresse e por isso pode desencadear desequilíbrio redox, provavelmente devido ao aumento da geração de EROS (RADAK et al., 2001). O desequilíbrio redox induzido pelo exercício agudo causa dano oxidativo aos componentes celulares, especialmente aos lipídios, proteínas e ao ácido desoxirribonucleico (DNA) (VOLLAARD; SHEARMAN; COOPER, 2005). Vale ressaltar que os eritrócitos são susceptíveis a ação das EROS produzidas durante o exercício: elas podem causar peroxidação lipídica (dano oxidativo aos lipídios), devido ao alto conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados presentes na membrana plasmática dos eritrócitos (HOCHSTEIN; JAIN, 1981).

Segundo Elosua et al., (2003) e Fatouros et al., (2004), apesar dos danos oxidativos ocorridos em decorrência ao exercício agudo, repetidas sessões de exercício, como ocorre durante o treinamento de *endurance*, estão relacionadas a uma melhora do sistema antioxidante, que fornece proteção contra a ação das EROS e, dessa forma, mantém o equilíbrio redox.

Recentemente, o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês *high intensity interval training*) tem se destacado como um método efetivo para melhora do condicionamento físico para população em geral (BURGOMASTER et al., 2005, 2006). De acordo com Gibala et al., (2012), embora esta modalidade de treinamento seja de baixo volume, ela induz adaptações musculares e cardiovasculares semelhantes ao treinamento tradicional de *endurance* que é de alto volume. Por isso, sugerimos que esta estratégia de treinamento poderia ser eficaz para promover adaptações no sistema antioxidante semelhante ao observado no treinamento de *endurance*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Espécies reativas de oxigênio e o sistema de defesa antioxidante

Radicais livres são átomos, moléculas ou fragmentos de moléculas, que contêm, um ou mais elétrons não pareados na camada eletrônica mais externa, ou camada de valência, motivo pelo qual apresentam alta reatividade e curta meia-vida (Halliwell; Gutteridge, 2007). O termo espécies reativas de oxigênio (EROS) refere-se a uma gama de compostos de natureza radicalar e não radicalar, centradas no oxigênio, que incluem o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxil ($OH^{\bullet}$) e o óxido nítrico ($NO^{\bullet}$), entre outros (HALLIWELL; CROSS, 1994). Devido a sua alta reatividade, as EROS podem reagir com outras moléculas, na tentativa de tornarem-se estáveis, o que transfere para as moléculas alvo o caráter de instabilidade (HALLIWELL, 1991; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

As EROS são continuamente formadas em decorrência da atividade metabólica celular, por processos enzimáticos e não enzimáticos. O superóxido é formado pela redução do oxigênio molecular (O_2) por um elétron, o que ocorre, principalmente, nas mitocôndrias e pela ação das NADPH oxidases (LAMBETH, 2004; BRAND, 2010). Nos eritrócitos, apesar da ausência de mitocôndrias, o ânion superóxido é formado pela auto-oxidação da oxi-hemoglobina a meta-hemoglobina (Misra; Fridovich, 1972; Wallace; Maxwell; Caughey, 1974a, 1974b) e, também, pela NADPH oxidase (George et al., 2013). O superóxido é carregado negativamente e é, portanto, relativamente impermeável às membranas celulares. Comparado a outras EROS, este possui maior meia-vida, que lhe permite difundir-se para dentro da célula, a partir do seu local de formação. Isso aumenta o número de potenciais alvos moleculares do superóxido (HALLIWELL, 1995).

A dismutação do superóxido, que pode ocorrer de forma espontânea ou catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD), é uma importante fonte de formação de H_2O_2 (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007) (reação 1).

$$2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad \text{(reação 1)}$$

O H_2O_2 é estável e permeável às membranas celulares, e tem uma longa meia-vida dentro da célula. Ele é citotóxico, apesar de ser considerado um fraco agente oxidante, e seus efeitos tóxicos decorrem, principalmente, de sua capacidade de gerar radical hidroxil ($OH^{\bullet}$).

A formação de radical hidroxil a partir do peróxido de hidrogênio ocorre por meio de reações catalisadas por metais, como o íon ferroso (Fe^{2+}), na reação de Haber-Weiss, que ocorre em duas etapas: na primeira o íon férrico (Fe^{3+}) é reduzido a Fe^{2+} pelo ânion superóxido (reação 2),

$$Fe^{3+} + O_2^{\bullet -} \rightarrow Fe^{2+} + O_2 \qquad \text{(reação 2)}$$

que na segunda etapa é utilizado na reação de Fenton para a formação de radical hidroxil a partir de peróxido de hidrogênio (reação 3).

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{-} + OH^{\bullet} \qquad \text{(reação 3)}$$

Assim, a reação líquida final da formação de radicais $OH^{\bullet}$ ou reação de Haber-Weiss é a seguinte (reação 4):

$$O_2^{\bullet -} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + O_2 \qquad \text{(reação 4)}$$

Diferente do H_2O_2, o $OH^{\bullet}$ é altamente reativo, com alto potencial oxidante. Por ser impermeável às membranas celulares, reage com as moléculas próximas aos sítios onde é produzido (KEHLER, 1989; HALLIWELL, 1995).

O $NO^{\bullet}$ sintetizado pelas enzimas da família das sintases de óxido nítrico, na conversão de arginina a citrulina, é uma espécie radicalar. Na presença de superóxido, ocorre, a partir do óxido nítrico, a formação do peroxinitrito ($ONOO^{-}$) (Kobzik et al., 1994; Kobzik et al.; 1995, Balligand; Feron; Dessy, 2009), um forte agente oxidante (reação 5).

$O_2^{\bullet -} + NO^{\bullet} \rightarrow ONOO^{-}$ (reação 5)

As EROS desempenham um duplo papel no organismo: em baixas ou moderadas concentrações participam de processos fisiológicos, como os mecanismos de defesa dos fagócitos contra agentes infecciosos, indução da resposta mitogênica, controle do tônus vascular, entre outros (Burke; Wolin, 1987; Lilius; Marnila, 1992; Hehner et al., 2000,). Quando há, porém, uma produção excessiva de EROS e uma deficiência nos sistemas antioxidantes em confrontar essa situação, estas reagem com as biomoléculas celulares, na tentativa de parear seus elétrons e restaurar sua estabilidade (RADAK et al., 2001). Isso modifica e deixa as biomoléculas instáveis, inibindo seu papel fisiológico e, também, causa perturbação do controle e da sinalização redox (Radak et al., 2001; Fisher-Wellman; Bloomer, 2009), situação denominada desequilíbrio redox (SIES, 1997).

A peroxidação lipídica é o dano oxidativo ocasionado aos lipídios pela ação das EROS, por remoção de um hidrogênio ou adição de um radical oxigênio, o que resulta em dano oxidativo, principalmente aos ácidos graxos poli-insaturados. A remoção de um hidrogênio no grupo metileno adjacente à instauração forma um radical centrado no carbono (Halliwell; Chirico, 1993), dando origem ao um radical lipídico. Esse radical é estabilizado por rearranjo molecular da dupla ligação, formando um conjugado dieno, que então reage com o oxigênio formando o radical peroxila (VALENZUELA, 1991). O radical peroxila por sua vez é capaz de abstrair hidrogênio de outro ácido graxo poli-insaturado, iniciando uma reação em cadeia (Halliwell; Chirico, 1993). A peroxidação lipídica somente termina quando dois radicais se unem formando uma molécula estável (GATÉ et al., 1999). A peroxidação lipídica está ilustrada na figura 1.

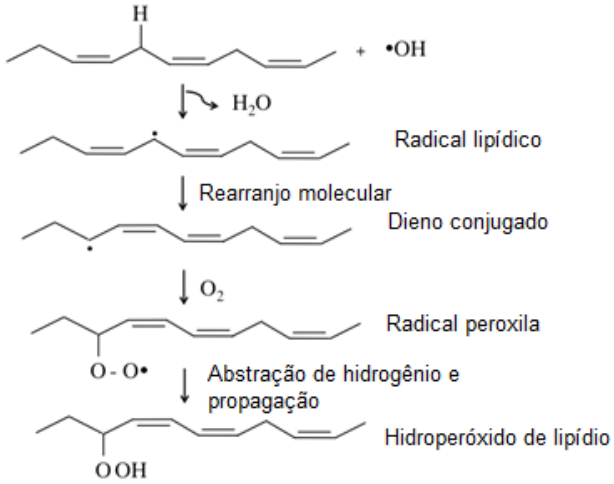

Figura 1 – Peroxidação lipídica.

Os produtos da peroxidação lipídica sofrem reações degradativas, que dão origem a diversos compostos, incluindo o malondialdeído (MDA) (FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009). O MDA é um aldeído altamente reativo e pode interagir com fosfolipídios, ácido desoxirribonucleico (DNA) e proteínas (DRAPER; HADLEY, 1990). A peroxidação lipídica reduz a fluidez e o papel de barreira de permeabilidade das membranas celulares. Os produtos da peroxidação lipídica, como os hidroperóxidos e seus derivados aldeídos, podem inibir a síntese proteica e a atividade das enzimas envolvidas na biossíntese da prostaglandinas e leucotrienos (Fridovich; Porter, 1981; Halliwell; Chirico, 1993), comprometendo as funções celulares. Os eritrócitos são particularmente sensíveis a peroxidação lipídica, já que aproximadamente metade de seus ácidos graxos na membrana plasmática são insaturados (TELEN; KAUFMAN, 1999).

Também as proteínas e ácidos nucleicos estão sujeitos a danos oxidativos decorrentes da ação das EROS. O radical hidroxil, por exemplo, reage com o DNA, adicionando hidrogênio às duplas ligações presentes nas bases nitrogenadas, ou removendo hidrogênios dos grupamentos metilenos presentes na timina e na desoxirribose (COOKE et al., 2003). O dano oxidativo mais estudado ao DNA é a oxidação da guanina, formando 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (8-OH-dG) (KASAI et al., 1986). Se não reparadas, as lesões oxidativas às bases do DNA são mutagênicas. A presença de 8-OH-dG, por exemplo, resulta em substituição G→T, quando formada *in situ*, ou A→C quando ocorre incorporação errônea de adenosina na fita complementar do DNA (CHENG et al., 1992).

A modificação oxidativa das proteínas é iniciada, principalmente, pelo radical

hidroxil, embora a disponibilidade de oxigênio e do ânion superóxido determine o curso do processo de oxidação. Em decorrência da reação com as EROS, pode ocorrer oxidação das cadeias laterais dos aminoácidos, formação de ligações cruzadas entre proteínas, e até fragmentação da cadeia polipeptídica, resultante da oxidação de átomos da cadeia principal (BERLETT; STADTMAN, 1997). Nos eritrócitos, por exemplo, foi demonstrado que o aumento da concentração de H_2O_2 induz a formação de um complexo covalente entre a hemoglobina e a espectrina, o que reduz a deformabilidade destas células, tornando-as mais susceptíveis a ruptura (SNYDER; FORTIER; TRAINOR, 1985). A oxidação direta de resíduos de lisina, arginina, prolina e treonina pelas EROS pode levar a formação de derivados carbonílicos (Berlett; Stadtman, 1997), além da adição de grupos carbonílicos às proteínas, pela reação com aldeídos, como o MDA, produto da peroxidação lipídica (ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLNER, 1991; UCHIDA; STADTMAN, 1993). A presença de grupos carbonílicos nas proteínas tem sido assim utilizada como marcador de dano oxidativo a estas biomoléculas (BERLETT; STADTMAN, 1997).

Para manter o equilíbrio redox celular, os organismos são dotados de uma série de mecanismos de defesa contra as espécies reativas (Halliwell, 1996), que incluem desde mecanismos antioxidantes a mecanismos de reparo (RADAK et al., 1999; KÖNIG et al., 2001). A ação antioxidante é realizada por agentes redutores, enzimáticos e não enzimáticos, que existem nos compartimentos intracelular e extracelular, e têm a capacidade de neutralizar as EROS, e assim, atrasar ou prevenir o desequilíbrio redox (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

A defesa antioxidante enzimática é composta pelas enzimas SOD, catalase (CAT), glutationa peroxidase (GPx) e glutationa redutase (GR). A SOD catalisa a dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio, (HALLIWELL; CROSS, 1994; GATÉ et al., 1999). Sua ação compreende a primeira linha de defesa antioxidante contra o desequilíbrio redox em diversos tecidos.

Nos mamíferos, a SOD é uma família de enzimas composta por várias isoformas que incluem as isoformas citoplasmática cobre/zinco (Cu,Zn-SOD) e a mitocondrial manganês (Mn-SOD) (Fridovich, 1975) e a isoforma extracelular (Marklund; Holme; Hellner 1982). Nos eritrócitos é encontrada apenas a Cu, Zn-SOD, que tem um papel importante no controle da formação de meta-hemoglobina (JOHNSON et al., 2005).

A neutralização do H_2O_2 é realizada pela CAT e pela GPx. A glutationa peroxidase, uma enzima selênio dependente, converte o H_2O_2 em água, por meio da oxidação da glutationa reduzida (GSH), formando GSSG (glutationa oxidada) (BRIGELIUS-FLOHE, 2006) (reação 6). A GPx atua conjuntamente com a glutationa redutase, que converte a GSSG em GSH, através da oxidação do NADPH a $NADP^+$ (reação 7). Esta reação é fundamental para a biodisponilibilidade da GSH *in vivo*. Ambas as enzimas estão localizadas no citosol e na mitocôndria (BJORNSTEDT et al., 1997).

$$2\ GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2\ H_2O \qquad \text{(reação 6)}$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2\ GSH + NADP^+ \qquad \text{(reação 7)}$$

A CAT também catalisa a conversão do H_2O_2 em água e oxigênio (reação 8), mas comparado a GPx ela possui menor afinidade por esta espécie reativa (ZÁMOCKÝ; KOLLER, 1999). A função catalítica desta enzima depende do ferro como co-fator, que encontra-se ligado ao seu sítio ativo (KIRKMAN; GAETANI, 2007).

$$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2 \qquad \text{(reação 8)}$$

No grupo dos antioxidantes não enzimáticos encontra-se a glutationa, vitamina C, vitamina E, carotenoides, ácido úrico, entre outros. Semelhantes às enzimas antioxidantes, eles estão presentes em diferentes compartimentos celulares e também no compartimento extracelular (URSO; CLARKSON, 2003). De maneira geral, os antioxidantes não enzimáticos neutralizam as várias EROS por doação de prótons (SIES; STAHL, 1995). A vitamina E atua protegendo os ácidos graxos poli-insaturados das membranas biológicas (Cachia et al., 1998), enquanto a vitamina C age na regeneração da vitamina E, principalmente, promovendo o retorno ao seu estado redutor (RIETJENS; BOERSMA; HAAN, 2002).

Apesar dos potenciais danos oxidativos causados pelas EROS, elas são necessárias à manutenção de um ambiente redox ideal para as atividades bioquímicas das células. As espécies reativas regulam vias de sinalização sensíveis ao equilíbrio redox, que promovem o

crescimento, diferenciação, proliferação e apoptose celular (MEYER; PAHL; BAEUERLE, 1994). Além disso, as enzimas antioxidantes contêm sequências regulatórias em seus genes que estão sob a ação de proteínas e fatores de transcrição sensíveis ao estado redox, o que controla sua expressão em resposta às alterações redox celulares (ALLEN; TRESINI, 2000).

As proteínas e fatores de transcrição sensíveis ao estado redox que controlam a expressão das enzimas antioxidantes são o fator de transcrição nuclear-κB (NF-κB) (Zhou; Johnson; Rando, 2001), a proteína ativadora 1 (AP-1, *activator protein*-1) (Sun; Oberley, 1996, Zhou; Johnson; Rando, 2001), as proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAPK, do inglês *mitogen activated protein kinase*) (Allen; Tresini, 2000) e o co-ativador do receptor gama do peroxissoma ativado por proliferação-alfa (PGC-1α, do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*) (WENZ; ROSSI; ROTUNDO, 2009).

2.2 Desequilíbrio redox induzido pelo exercício

Na década de 1970, Dillard et al., (1978) demonstraram, pela primeira vez, que o exercício físico aumentou a produção de EROS em humanos. Esses autores, observaram que 60 minutos de ciclismo, a 50% do consumo máximo de oxigênio (VO_2max) promoveu aumento de 1,8 vezes no pentano expirado, um indicador de peroxidação lipídica. Posteriormente, Davies et al., (1982) sugeriram que o músculo em contração seria uma importante fonte de EROS durante o exercício, uma vez que os autores observaram, através da técnica de ressonância paramagnética de elétrons (RPE), um aumento de 2 a 3 vezes na amplitude do sinal de radicais livres mensurado em homogenato muscular de ratos.

A mitocôndria sempre foi considerada a fonte primária de produção de EROS, especificamente do ânion superóxido, no músculo esquelético em contração, principalmente em função de estudos que sugeriam que 2 a 5% do oxigênio total consumido na mitocôndria sofre redução incompleta, formando superóxido (BOVERIS; CHANCE, 1973; LOSCHEN et al., 1974). Assim, como o consumo de oxigênio durante o exercício aumenta drasticamente, em até 100 vezes, diversos autores propõem que o aumento da produção de EROS durante o exercício seria decorrente do aumento do consumo de oxigênio para sustentar a demanda

energética aumentada do músculo em contração (KANTER, 1995; URSO; CLARKSON, 2003). Contudo, a visão da mitocôndria como principal fonte de EROS durante o exercício tem sido questionada. Primeiro, porque estudos sugerem que o percentual de oxigênio que sofre redução incompleta na mitocôndria é bem menor do que o anteriormente estimado (apenas 0,15%) (ST-PIERRE et al., 2002; BRAND et al., 2004). E também porque no seu estado ativado, estimulado pelo ADP, a geração de superóxido na mitocôndria é menor, comparado ao estado basal (DI MEO; VENDITTI, 2001; KAVAZIS et al., 2009). Assim, durante o exercício aeróbico, as mitocôndrias estão predominantemente no estado ativado e isso limita a geração de EROS durante as contrações musculares (HERRERO; BARJA, 1997, DI MEO; VENDITTI, 2001).

Recentemente, as enzimas da família da NADPH oxidase têm ganhado destaque como potencial fonte de produção de EROS no músculo esquelético durante o exercício (SAKELLARIOU; JACKSON; VASILAKI, 2014). Esta enzima é encontrada no sarcolema, túbulos transversos, retículo sarcoplasmático e nas mitocôndrias das células musculares esqueléticas (XIA et al., 2003; HIDALGO et al., 2006; SAKELLARIOU et al., 2013). Estudos mostram que enquanto a inibição de vias mitocondriais de produção de EROS durante a contração muscular não reduzem a geração de EROS, inibidores da NADPH oxidase reduzem a produção basal e induzida por contração de espécies reativas no músculo esquelético (ESPINOSA et al., 2006; SAKELLARIOU et al., 2013).

Além do músculo esquelético, o aumento da produção de EROS durante o exercício pode ocorrer em outros tecidos e por outros mecanismos além dos anteriormente descritos, que incluem a reação de auto-oxidação das catecolaminas (Zouhal, et al., 1998), a ativação da xantina oxidase (Vina; Gimeno; Sastre, 2000) e de neutrófilos (MOROZOV; PRYATKIN; KALINSKI, 2003). Como já mencionado, a autoxidação da hemoglobina é uma constante fonte de ânion superóxido. Evidências sugerem que, durante o exercício, há aumento na geração de EROS por hemeproteínas, especialmente nas hemácias (VOLLAARD; REEDER; SHEARMAN, 2005). É importante mencionar que as EROS produzidas pelos eritrócitos podem deixar as células e danificar componentes plasmáticos (JOHNSON et al., 2005). Também, algumas das espécies reativas, liberadas no plasma, eventualmente, podem difundir-se para os eritrócitos, pois o $O_2^{\bullet-}$ atravessa os canais iônicos na membrana dos eritrócitos e o H_2O_2 pode atravessar as membranas celulares facilmente (LYNCH; FRIDOVICH, 1978).

Devido a curta meia-vida e baixa concentração *in vivo*, é extremamente difícil a quantificação direta das EROS. Assim, a maioria dos estudos sobre a geração de EROS em resposta ao exercício avalia, principalmente, a presença/modificação de marcadores de dano oxidativo às principais biomoléculas, ou modificação na concentração/atividade de antioxidantes. Existem, portanto, diversos estudos que demonstram o aumento da peroxidação lipídica (Kanter et al., 1988; Ashton et al., 1998), do dano oxidativo a proteínas (Alessio et al., 2000) e ao DNA (Niess et al., 1996; Poulsen; Loft; Vistisen, 1996) em resposta ao exercício que evidenciam o aumento da produção de EROS durante o exercício. Estes estudos indicam que diversos fatores determinam a magnitude do efeito do exercício no estado redox, como a intensidade, o tipo e a duração do exercício, bem como o condicionamento físico dos indivíduos.

Em relação à intensidade do exercício, por exemplo, Takahashi et al., (2012) submeteram 8 homens não treinados a um protocolo de ciclismo, composto por 3 sessões de 20 minutos cada, realizadas com intervalo de 1 semana. A primeira sessão, de baixa intensidade, foi realizada a 70% do limiar anaeróbico, a segunda sessão foi de moderada intensidade (100% do limiar anaeróbico) e a última sessão, de alta intensidade, foi realizada a 130% do limiar anaeróbico. Amostras de sangue foram coletadas antes, imediatamente e 30 minutos após cada sessão de exercício. Os autores observaram alterações no estado redox apenas após o exercício de alta intensidade, que foi caracterizado pelo aumento da concentração plasmática de metabólitos derivados de ROS e da capacidade antioxidante total do plasma, avaliada por equivalentes de Trolox (TEAC).

A associação entre o tempo de duração do exercício e o desequilíbrio redox foi descrita no estudo de (BLOOMER et al., 2007). Oito homens, que realizavam exercício aeróbico em média de 10 horas por semana, submeteram-se a uma sessão de ciclismo a 70% do VO_2max com diferentes tempos de duração (30, 60 e 120 minutos). Os autores encontraram aumento da concentração plasmática de proteína carbonílica imediatamente após o exercício de 120 minutos de duração comparado com o exercício de 30 e 60 minutos.

O efeito do condicionamento físico sobre o desequilíbrio redox induzido pelo exercício foi investigado por (FALONE et al., 2010). No seu estudo o equilíbrio redox foi comparado entre homens não treinados e treinados submetidos a um teste progressivo máximo na esteira. Os autores observaram diminuição da capacidade antioxidante total sérica nos não treinados após o exercício, mas nos treinados não houve alteração depois do

exercício. Além disso, indivíduos treinados apresentaram independente do exercício máximo, maior capacidade antioxidante total sérica comparado aos não treinados.

Resultados semelhantes foram descritos por Farney et al., (2012), que avaliaram marcadores de desequilíbrio redox no sangue de indivíduos treinados após diferentes sessões de exercício de variada duração e intensidade (60 minutos de exercício a 70% da frequência cardíaca de reserva; 5 *sprints* de 60 segundos a 100% da potência máxima; 10 *sprints* de 15 segundos a 200% da potência máxima). Nenhuma diferença foi observada na concentração de MDA, produção de H_2O_2 e oxidação de proteínas após ou entre as diferentes sessões de exercício. Estes estudos sugerem que indivíduos treinados e/ou fisicamente ativos têm uma atenuada produção de espécies reativas em resposta ao exercício ou uma resposta mais eficiente do sistema antioxidante ao estímulo do exercício.

2.3 O papel das EROS produzidas durante o exercício – adaptações ao treinamento

Embora o exercício agudo promova aumento na produção de EROS, o que pode levar a uma condição de desequilíbrio redox, é sabido que a participação em programas de exercício regular está associada ao aumento da atividade das enzimas antioxidantes (Steinberg; Delliaux; Jammes, 2006), o que pode fornecer proteção contra aumento da geração de EROS, e assim manter o equilíbrio redox (BLOOMER, 2008).

Neste sentido, o efeito do treinamento aeróbico sobre os parâmetros do estado redox foi analisado por Miyazaki et al., (2001) que relataram aumento da atividade da superóxido dismutase e diminuição do TBARS após o treinamento. O protocolo de treinamento investigado foi composto por 12 semanas de treinamento, 5 dias por semana, com duração de 60 minutos diários a 80% da frequência cardíaca máxima. Estes achados indicam que o treinamento promoveu aumento da atividade das enzimas antioxidantes dos eritrócitos, que foi acompanhado por uma redução na peroxidação lipídica nos eritrócitos após o treinamento. Também, Elosua et al., (2003) demonstraram aumento da atividade da SOD dos eritrócitos após um programa de treinamento aeróbico de 16 semanas.

Ainda neste contexto, Bloomer et al., (2007) comparam as concentrações plasmáticas basais dos marcadores de desequilíbrio redox, MDA e proteína carbonílica, entre indivíduos

jovens treinados e não treinados. Os autores demonstraram que indivíduos treinados apresentaram menores concentrações plasmáticas basais destes marcadores em relação aos indivíduos não treinados. Os resultados observados estão de acordo com a melhora do sistema de defesa antioxidante promovida pelo treinamento. Ou seja, em resposta a repetidos aumentos na produção de EROS através do exercício agudo, o organismo se adapta, para atenuar os efeitos do desequilíbrio redox.

2.4 O treinamento intervalado de alta intensidade

O treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, *high intensity interval training*) é caracterizado por breves e repetidas sessões de exercício intenso (próximo a 100% da capacidade máxima do indivíduo), intercaladas por períodos de repouso ou exercício de baixa intensidade (GIBALA; MCGEE, 2008; GILLEN; GIBALA, 2014). Recentes investigações demonstram que esta modalidade de treinamento desencadeia adaptações musculares e vasculares similares àquelas observadas em resposta ao treinamento de *endurance* (GIBALA et al., 2006; BURGOMASTER; HEIGENHAUSER; GIBALA, 2006; BURGOMASTER et al., 2008; RAKOBOWCHUK et al., 2008).

Entre as adaptações desencadeadas pelo HIIT encontram-se o estímulo à biogênese mitocondrial e à atividade de enzimas oxidativas (Gibala et al., 2006; Gibala; Mcgee, 2008; Little et al., 2010), à melhora da rigidez arterial periférica, aumento da expressão de (transportador de glicose 4) GLUT-4, aumento da sensibilidade à insulina (RAKOBOWCHUK et al., 2008, LITTLE et al., 2010). Por promover adaptações semelhantes ao treinamento de *endurance*, porém com menor volume treinamento, o HIIT tem recentemente ganhado popularidade como uma intervenção tempo-eficiente para melhora do condicionamento aeróbico em poucas sessões de treinamento (BURGOMASTER et al., 2005, BURGOMASTER; HEIGENHAUSER; GIBALA, 2006; LITTLE et al., 2010). Importante salientar que o HIIT, por ser de baixo volume, ou seja, as sessões de exercício duram menos de 30 minutos (Gillen; Gibala, 2014), representa uma alternativa ao treinamento de *endurance*, para melhorar a saúde e diminuir o risco de doenças crônicas, uma vez que, a falta de tempo para a prática regular de exercícios físicos é a barreira mais citada pela população em geral (GODIN et al., 1994; TROST et al., 2002). Considerando que a progressão das

doenças cardiovasculares é atenuada pelo treinamento físico regular, especialmente o treinamento de *endurance*, e que o sedentarismo é o principal fator de risco modificável para doenças cardiovasculares pelo treinamento (Celermajer et al., 1994; Suwaidi et al., 2000), o HIIT pode ser uma opção para promoção de saúde, por estimular maior aderência a prática regular de exercício físico.

Bartlett et al., (2011) quantificaram a satisfação percebida durante o exercício através da escala de satisfação da atividade física e observaram que a percepção de satisfação dos indivíduos com HIIT foi maior comparado ao exercício contínuo, apesar da percepção de esforço ser maior no HIIT. Em seu estudo, 8 homens ativos recreacionalmente foram avaliados em 2 sessões de exercício, ambas realizadas na esteira. Uma foi composta por corrida a 70% do VO_2max durante 50 minutos. A outra foi constituída por HIIT, sendo 6 estímulos de 3 minutos, a 90% do VO_2max, intercalados com 3 minutos de recuperação ativa a 50% do VO_2max. Portanto, a maior satisfação observada com o HIIT pode proporcionar maior aderência ao treinamento.

Embora o HIIT ofereça uma alternativa de treinamento de baixo volume, as sessões de treinamento são de alta intensidade, e podem, portanto, implicar em um quadro agudo de desequilíbrio redox. Porém, como já demonstrado, desequilíbrio redox induzido pelas sessões aguda de exercício atuam como estímulo para desencadear adaptações no sistema de defesa antioxidante. Assim, este trabalho investigou os efeitos agudo e crônico do treinamento intervalado de alta intensidade em homens jovens não treinados.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos agudo e crônico do exercício intervalado de alta intensidade sobre parâmetros do equilíbrio redox sanguíneo de homens não treinados.

3.2 Objetivos específicos

Investigar o efeito de uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade (HIIE) sobre parâmetros do equilíbrio redox sanguíneo, a saber:

- avaliar o efeito do HIIE sobre a concentração plasmática de TBARS e a capacidade antioxidante total do plasma;

- avaliar o efeito do HIIE sobre a concentração de TBARS e a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase nos eritrócitos.

Investigar o efeito do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) sobre parâmetros do equilíbrio redox sanguíneo, a saber:

- avaliar o efeito do HIIT sobre a concentração plasmática de TBARS e a capacidade antioxidante total do plasma;

- avaliar o efeito do HIIT sobre a concentração de TBARS e a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase nos eritrócitos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi dividido em duas etapas de exercícios experimentais. Na primeira delas foi avaliado o efeito de uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade (HIIE) sobre o estado redox sanguíneo de indivíduos não treinados, onde as variáveis de interesse foram analisadas antes (pré-ex) e imediatamente após (pós-ex) o exercício. Na segunda etapa, os indivíduos foram submetidos a um programa de 4 semanas de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), para avaliar o efeito desta modalidade de treinamento no estado redox sanguíneo, e as variáveis de interesse foram analisadas antes (pré-treino) e após (pós-treino) o período de treinamento. Previamente aos protocolos experimentais, os voluntários foram submetidos a avaliações preliminares para caracterização da amostra e determinação de parâmetros necessários a condução dos experimentos. O delineamento adotado no estudo está ilustrado na figura 2, cujo detalhamento é apresentado nas sessões que seguem.

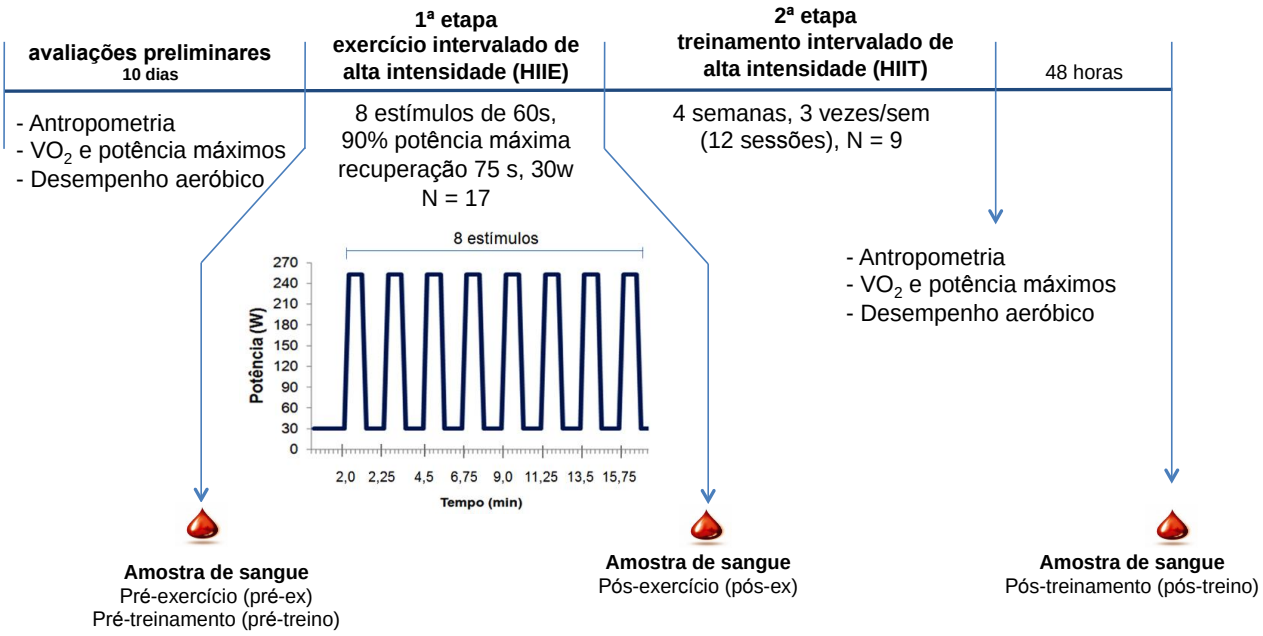

Figura 2 – Etapas do estudo.

4.1 Voluntários e aspectos éticos

Foram selecionados para participar do estudo homens com idade entre 18 e 35 anos, eutróficos, não treinados ou fisicamente ativos, com $VO_2max \leq 50$ (mL/kg/min), que não estavam engajados em atividade recreacional ou esportiva com frequência mínima de 3 vezes por semana, nos 3 meses anteriores ao início do projeto. Para participar do estudo os voluntários deveriam ainda apresentar desempenho no teste em cicloergômetro de intensidade autorregulada de 15km entre 35 e 45 minutos. Os voluntários selecionados não estavam fazendo uso de medicamentos ou suplementos alimentares, incluindo suplementos com função antioxidante, durante o período do estudo, e não apresentaram risco para realização de atividade física, de acordo com os questionários de Prontidão para Atividade Física (PAR-Q) (Anexo A) (*Canada´s physical activity guide to healthy active living*, 2007) e de Risco Coronariano (Anexo B) (*American college of sports medicine* (ACSM), 2009). Para avaliação do risco coronariano os valores de colesterol total e glicemia de jejum dos voluntários foram determinados por exames laboratoriais.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) e está registrado na Plataforma Brasil sob o número CAAE 19214013.1.0000.5108.

4.2 Avaliações físicas e fisiológicas dos voluntários

4.2.1 Avaliação antropométrica

Na primeira visita ao laboratório, a massa, estatura e composição corporal dos voluntários foram determinadas. A massa e a estatura corporal foram avaliadas em balança analógica com estadiômetro acoplado (Welmy, modelo 110, Brasil). Essas medidas foram empregadas no cálculo do índice de massa corporal (IMC) por divisão da massa corporal (kg) pelo quadrado da estatura (m^2).

Para a avaliação da composição corporal foi utilizada a absorciometria radiológica de dupla energia (DXA, DPX, Lunar Radiation Corporation, Madison, Wisconsin, USA). Para essa análise, os voluntários foram posicionados na área de escaneamento do equipamento, de modo que a linha sagital demarcada nessa área passasse sob o centro de alguns pontos anatômicos como crânio, coluna vertebral, pélvis e pernas. Os sujeitos foram avaliados trajando roupas leves, sem o uso de qualquer objeto de metal que pudesse interferir nas medidas.

4.2.2 Determinação do consumo máximo de oxigênio e da potência máxima

Para determinação do consumo máximo de oxigênio (VO_2max) os voluntários foram submetidos a um teste de esforço máximo, utilizando o protocolo de rampa, em cicloergômetro (Ideal, MMX, Brasil), de acordo com Whipp et al., (1981). Esse teste foi realizado 48h após um teste de familiarização semelhante ao descrito neste tópico e conduzido no mesmo dia da avaliação antropométrica. O teste foi realizado em câmara ambiental, com temperatura seca de 22°C e umidade relativa do ar de 60%. Antes do teste, os voluntários permaneceram em repouso por 20 minutos, em decúbito dorsal, na câmara ambiental. Em seguida, foi aferida a pressão arterial e os voluntários foram conduzidos ao cicloergômetro.

Para a condução do protocolo de rampa, primeiramente foi estimada a potência máxima dos voluntários pelo *Veterans Specific Activity Questionnaire* (VSAQ). O VSAQ apresenta uma lista de atividades com aumento progressivo de intensidade em termos de equivalentes metabólicos (MET). Os voluntários foram instruídos a determinar no questionário a primeira atividade que poderia causar fadiga ou falta de ar que levaria à interrupção do exercício após 5 a 10 minutos. A partir do MET, conforme equação 9, derivados do VSAQ, e levando-se em conta a idade dos voluntários, foi utilizado um nomograma (MYERS et al., 1994) para determinar a capacidade máxima de trabalho individual dos voluntários:

$$METs = 4,7 + 0,97\ (VSAQ) - 0,06\ (idade) \qquad \text{(equação 9)}$$

Posteriormente, foi predita a capacidade máxima para o exercício a partir da equação 10 que segue: (MYERS,1996)

Capacidade de trabalho (watts): (METs - 1) x massa corporal (kg) / 3,486

(equação 10)

O protocolo de rampa consistiu inicialmente de dois minutos de preparação a 50 rotações por minuto (rpm) e 25 Watts de potência. Em seguida, a partir dos dados obtidos da capacidade de trabalho, os incrementos de carga ocorreram a cada 60 segundos, de tal forma que a fadiga ocorresse entre o oitavo e décimo segundo minutos de teste (YOON; KRAVITZ; ROBERGS, 2007). Durante o teste, os voluntários receberam estímulos verbais padronizados dos avaliadores para que permanecessem em atividade até o limite máximo percebido. Todos os testes foram finalizados a pedido dos voluntários (fadiga voluntária). No momento da fadiga, a carga foi retirada e os voluntários continuaram a pedalar por 2 minutos a 25 watts.

A frequência cardíaca (FC) foi registrada a cada 5 segundos, durante todo o teste, usando um monitor de frequência cardíaca Polar® RS800cx (Polar Electo Oy, Kempele, Finlândia). A escala de Borg (1998) foi utilizada, a cada minuto do teste, para determinar a percepção subjetiva do esforço (PSE).

O teste foi considerado máximo quando os seguintes critérios foram observados: FC máxima > 95% da máxima prevista para a idade e percepção subjetiva do esforço entre 18 e 20 (YOON; KRAVITZ; ROBERGS, 2007).

Utilizou-se a equação 11 (ACSM, 2009), para calcular de forma indireta o consumo máximo de oxigênio dos voluntários:

VO_2 = 1.8 x [taxa de trabalho (kg/m)] / massa corporal (kg) + 7 (equação 11)

Além disso, determinou-se a potência máxima atingida no teste, como a potência desenvolvida no último estágio completo do protocolo. Duas horas antes da realização do

teste, os voluntários foram instruídos a ingerir uma dieta rica em carboidrato, de acordo com uma lista de alimentos (Apêndice A), elaborada pela Prof.ª Elizabeth Adriana Esteves (informação verbal)[1].

Também foi requerido aos voluntários evitarem a prática de atividade física extenuante e não ingerir cafeína, álcool e diuréticos 24 horas antes do teste. Os voluntários foram questionados sobre o cumprimento dessas orientações antes do teste. Para garantir o estado de hidratação inicial, os voluntários foram orientados a ingerir 500 mL de água duas horas antes do início do teste (ACSM, 2007). A gravidade específica da urina, medida através de um refratômetro (Biobrix®, modelo 301, Brasil), foi utilizada para a caracterização do estado de hidratação. Os indivíduos foram considerados eu-hidratados quando a gravidade específica da urina estava menor que 1020 (Armstrong, 2000). Nas situações que a gravidade específica da urina foi maior que 1020 foi oferecido ao indivíduo 5 mL de água por quilo de massa corporal (ACSM, 2007) e aguardado 30 minutos para iniciar o teste.

4.2.3 Teste em cicloergômetro de intensidade autorregulada de 15 km

Para avaliar o desempenho aeróbico, os voluntários realizaram um teste de 15km, em cicloergômetro, a 50% da potência máxima alcançada no teste de VO_2max. O desempenho dos voluntários foi avaliado 48 horas após a determinação do consumo máximo de oxigênio e potência máxima e no mínimo 48 horas antes desta avaliação, os voluntários passaram por uma sessão de familiarização, a fim de assegurar um desempenho adequado. Os indivíduos foram instruídos a realizar o teste no menor tempo possível. Durante o teste, realizado em câmara ambiental, a 21ºC e 60% de umidade relativa, foi permitido ao voluntário o controle da velocidade do cicloergômetro, mas nenhuma informação foi disponibilizada em relação à velocidade desenvolvida ou sobre a duração do mesmo. A cada 3 km, os voluntários foram informados sobre a distância percorrida, através de uma placa indicativa.

[1] Lista de alimentos elaborada pela Prof.ª Elizabeth Adriana Esteves na UFVJM, em janeiro de 2013.

4.3 Exercícios experimentais

4.3.1 Sessão aguda de exercício intervalado de alta intensidade

Após os procedimentos anteriormente descritos, decorrido um intervalo mínimo de 10 dias, os voluntários (n = 17) realizaram uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade (HIIE, do inglês *high intensity interval exercise*).

No dia anterior ao teste, os voluntários receberam orientações pré-teste, que foram as mesmas descritas na sessão 4.2.2. Ao se apresentarem para a sessão aguda, os voluntários foram questionados sobre o cumprimento das orientações e seu estado de hidratação foi avaliado pela gravidade específica da urina, como previamente descrito.

Após 10 minutos de repouso sentado, os voluntários realizaram uma sessão de HIIE, em cicloergômetro (Moviment, BM 2800 PRO, Brasil), que foi composta por 8 estímulos de 60 segundos a 90% da potência máxima, intercalados por 75 segundos de recuperação ativa a 30 Watts, conforme ilustrado na figura 3. No início e ao final da sessão de HIIE, os voluntários pedalaram por 2 minutos, a 30 Watts, como atividade preparatória e para recuperação ativa, respectivamente.

A frequência cardíaca foi registrada a cada um minuto durante os 10 minutos de repouso e ao final de cada estímulo durante a sessão de HIIE. Também, a temperatura e a umidade relativa do ar foram registradas a cada 10 minutos, utilizando um termômetro de ambiente (Alfa Mare, AM-208).

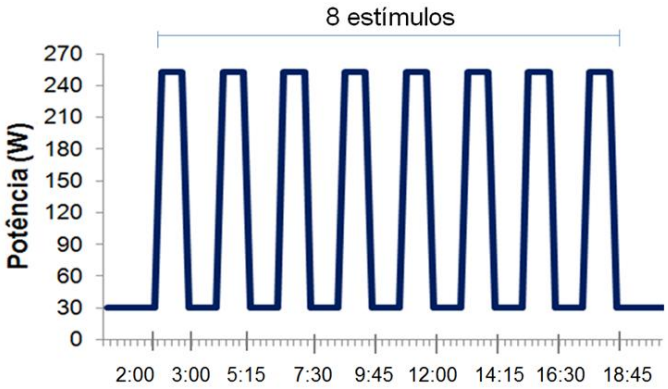

Figura 3. Ilustração do comportamento da potência e número de estímulos durante uma sessão de HIIE.

Antes (pré-ex) e imediatamente (pós-ex) após o exercício amostras de sangue (aproximadamente 8 mL) foram coletadas, da veia antecubital, em tubos contendo K3 EDTA (Shandong Weigao Group Medical Polymer, República Popular da China) para análise de parâmetros do estado redox eritrocitário e plasmático.

Imediatamente após a coleta, o sangue foi centrifugado a 1000 *x g* (Thermo Electron Led GMBH D37520, Alemanha), por 10 minutos, a temperatura ambiente. O plasma e os eritrócitos, após remoção do *buff* de leucócitos, foram rapidamente recolhidos e armazenados no freezer -80 °C para posterior análise.

4.3.2 Treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT)

Após a primeira sessão de HIIE, os voluntários (n = 9) se submeteram a um programa de HIIT, realizado em cicloergômetro (Moviment, BM 2800 PRO, Brasil) durante 4 semanas, 3 vezes por semana, totalizando 12 sessões de treinamento (incluindo a sessão de HIIE). A progressão do treinamento é apresentada na Tabela 1. Cada sessão consistiu em um número de estímulos (8 a 13), de 60 segundos de duração cada, realizados a um determinado percentual da potência máxima (90 a 110%), intercalados por 75 segundos de recuperação ativa, a 30 Watts. No início e ao final de cada sessão os voluntários pedalaram por 2 minutos, a 30 watts, como atividade preparatória e para recuperação ativa, respectivamente. Durante as sessões de treinamento a FC foi registrada ao final de cada estímulo.

O treinamento ocorreu em horário de escolha dos voluntários, em 2 turnos: manhã (8h) ou noite (18h). Durante todas as sessões a temperatura e a umidade relativa do ar foram registradas, utilizando um termômetro de ambiente (Alfa Mare, AM-208).

Amostras de sangue (aproximadamente 8 mL) foram coletadas e processadas como descrito anteriormente (item 4.3.1) antes (pré-treino) e 48 horas após a reavaliação do desempenho (pós-treino) para análise de parâmetros do equilíbrio redox plasmático e nos eritrócitos.

Tabela 1 - Protocolo de Treinamento

Sessão	Nº de estímulos	Intensidade (% da potência máxima)
1	8	90
2	8	100
3	9	100
4	9	100
5	10	100
6	10	100
7	11	100
8	11	100
9	12	100
10	12	110
11	13	110
12	13	110

Ao final do treinamento, no curso de 3 dias, os voluntários foram reavaliados quanto às variáveis antropométricas, VO_2max e desempenho aeróbico. O teste foi repetido nas mesmas condições da avaliação inicial, descritas nos itens 4.2.1, 4.2.2 e 4.2.3.

4.4 Análise dos parâmetros do estado redox plasmático

Para avaliar o estado redox plasmático foi determinada a concentração de TBARS e a capacidade antioxidante total do plasma, nas amostras coletadas antes e após os exercícios experimentais descritos nos itens 4.3.1 e 4.3.2.

4.4.1 Medida da concentração plasmática de TBARS

A reação do ácido tiobarbitúrico com o malondialdeído, principal produto da peroxidação lipídica, foi utilizada para determinar a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com o método descrito por descrito por Ohkawa; Ohishi; Yagi, (1979), modificado segundo Uchiyama; Mihara, (1978). Alíquotas de plasma (0,4 mL) foram adicionadas em 1000 µL de ácido acético 2,5M (pH 3,4) e a 250 µL ácido tiobarbitúrico 0,8%. Esta mistura foi incubada por 90 minutos a 95 °C. Após resfriamento foram acrescidos 2,2 mL de n-butanol e a mistura foi homogeneizada no vórtex por 30 segundos e depois centrifugada (Thermo Electron Led GMBH D37520, Alemanha) a 450 *x* g por 10 minutos.

A fase em butanol foi analisada, em duplicata, no leitor de microplacas **(**SpectranMax®190, Molecular Devices, EUA**)** a 532 nm. A concentração de TBARS, expressa em nmol de MDA/mg proteína, foi determinada a partir da curva padrão de concentrações conhecidas de malondialdeído (1,1,3,3-tetramethoxypropane) (Sigma, USA).

4.4.2 Medida da capacidade antioxidante total plasmática

O ensaio da capacidade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP) foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996). A capacidade de redução do complexo da forma férrica Fe^{3+}-TPTZ (ferri-tripiridiltriazina) para a ferrosa Fe^{2+}-TPTZ (ferroso-tripiridiltriazina) dos antioxidantes plasmáticos, em pH ácido, define seu poder antioxidante. Para a confecção do reagente FRAP, 25 mL de tampão acetato de sódio (0,3 M, pH 3,6) foram acrescentados a 2,5 mL de TPTZ (10 mM) e depois misturado a 2,5 mL de $FeCl_3.H_2O$ (20 mM). A uma alíquota de 528 µL do reagente FRAP foi adicionado 42 µL de água deionizada e a 30 µL de plasma. Essa mistura foi homogeneizada e incubada no escuro, a 37 °C por 30 minutos. Depois de resfriada por 10 minutos, as amostras foram analisadas, em duplicata, em leitor de microplacas **(**SpectranMax®190, Molecular Devices, EUA**),** a 593 nm. A capacidade antioxidante total do plasma foi expressa em equivalentes de Fe^{2+} determinada a

partir da curva padrão de concentrações conhecidas de $FeSO_4$ e normalizada pela quantidade de proteína na amostra, resultados expressos como µg $FeSO_4$/mg de proteína (Codex Erba).

4.5 Análise dos parâmetros do estado redox eritrocitário

Para avaliar o equilíbrio redox dos eritrócitos foi determinada a concentração de TBARS e a atividade das enzimas SOD e CAT, nas amostras coletadas antes e após os exercícios experimentais descritos nos itens 4.3.1 e 4.3.2.

4.5.1 Preparo do lisado eritrocitário

O lisado eritrócitário foi preparado como descrito por Glass e Gershon (1981). Para tal, 450 µL (1,5 vezes o volume de eritrócitos) de tampão fosfato de potássio (5 mM, pH 7,0) foram adicionados a 300 µL de eritrócitos. A suspensão foi congelada e descongelada 3 vezes, e na sequência centrifugada (Thermo Electron Led GMBH D37520, Alemanha) a 12.000 *x* g, por 30 minutos, a temperatura ambiente. Logo após, a 340 µL do sobrenadante do lisado eritrocitário foram acrescentados 425 µL (1,25 vezes o volume de sobrenadante) de clorofórmio e etanol gelados e 600 µL (2 vezes o volume do sobrenadante) de tampão fosfato de potássio (5 mM, pH 7,0). Essa mistura foi centrifugada (Thermo Electron Led GMBH D37520, Alemanha) a 12.000 *x* g, por 30 minutos. O sobrenadante do lisado eritrocitário foi utilizado para análise da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase, e para a de TBARS, conforme descrito nas próximas sessões.

4.5.2 Medida da concentração de TBARS no lisado eritrocitário

Este procedimento foi realizado conforme descrito no item 4.4.1, excetuando a etapa de extração de lipídeos com n-butanol.

4.5.3 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase

O ensaio para determinar a atividade da SOD, EC 1.15.1.1 foi realizado de acordo com Srivastava et al., (2007). Resumidamente, foi adicionado 1mL de tampão fosfato de potássio (50mM, pH 7,8) contendo 1 mM de ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) a 0,05 mL do lisado eritrocitário. A reação foi iniciada com a adição do pirogalol (0,2 mM). A leitura foi realizada durante 4 minutos à 37ºC no leitor de microplacas (SpectranMax®190, Molecular Devices, EUA), a 420 nm, em duplicata. A atividade da enzima, expressa em U/mg de proteína, foi determinada a partir da capacidade da superóxido dismutase em inibir a autoxidação do pirogalol, onde 1U é igual a 50% de inibição da autoxidação do pirogalol.

4.5.4 Determinação da atividade da enzima catalase

O ensaio da CAT, EC 1.11.1.6 foi realizado conforme o método de Nelson e Kiesov (1972), com algumas modificações. Foram adicionados 2 mL de tampão fosfato (50 mM, pH 7,0) em uma alíquota (0,1 mL) do lisado eritrocitário, e, em seguida, adicionado 0,06 mL de substrato (H_2O_2, 3M). A leitura foi realizada durante 1 minuto à 25 °C em leitor de microplaca a 240 nm (SpectranMax®190, Molecular Devices, EUA), em duplicata. A atividade da catalase foi expressa em ΔE/min/mg de proteína, sendo que ΔE corresponde a variação da atividade da enzima durante um minuto.

4.6 Dosagem de proteínas

A concentração de proteínas das amostras foi determinada pelo método de Bradford (Bradford,1976) utilizando-se a albumina de soro bovino (BSA) (1mg/mL) como padrão. A leitura foi realizada em leitor de microplacas (SpectranMax®190, Molecular Devices, EUA) e os valores de proteína, em mg/mL, determinados pelo software Softmaxpro® (V5.4, Molecular Devices, EUA).

4.7 Análise estatística

A estatística descritiva utilizada nas variáveis estudadas foram: média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores máximos e mínimos. Para análise dos dados e confecção dos gráficos utilizou-se o *software* GraphPad Prism (versão 5.00 para Mac OS X, GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com). O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados. A avaliação dos efeitos agudo e crônico do exercício intervalado de alta intensidade sobre as variáveis dependentes foi realizada por teste T pareado, exceto para a capacidade antioxidante total do plasma, que não apresentou distribuição normal e foi, portanto, avaliada pelo teste de Wilcoxon. Foi utilizado nível de significância $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

Este estudo foi dividido em duas etapas experimentais. Na primeira etapa, que avaliou o efeito agudo de uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade sobre parâmetros de equilíbrio redox plasmático e eritrocitário, participaram 17 homens, cujos dados referentes às características físicas e fisiológicas estão apresentados na tabela 2. Os valores médios referentes a temperatura e umidade relativa do ar obtidos durante a sessão de HIIE foram, respectivamente, 22,4 ± 42°C e 45,5 ± 5,2%.

Os dados da tabela mostram que, de acordo com os critérios de inclusão, os voluntários que participaram desta etapa do estudo, eram jovens, não treinados e eutróficos.

Tabela 2. Características físicas e fisiológicas dos voluntários da sessão aguda de HIIE.

Variáveis	Média ± DP	CV (%)	Máximo	Mínimo
Idade (anos)	23,5 ± 3,1	13,4	32,0	19,0
Massa corporal (kg)	68,7 ± 9,2	13,4	88,8	53,5
Estatura (cm)	170,6 ± 7,0	4,1	181,0	153,0
Gordura corporal (%)	23,5 ± 5,2	22,3	31,3	13,9
IMC (kg/m^2)	23,4 ± 2,1	9,0	27,1	19,6
VO_2max (mL/kg/min)	38,3 ± 5,1	13,4	50,34	29,4
Potência (Watts)	257,5 ± 59,8	23,2	387,9	178,3
Glicose (mg/dl)	87,0 ± 8,16	9,38	101,0	70,0
Colesterol total (mg/dl)	184,2 ± 39,1	21,2	266,0	131,0

DP = desvio padrão, CV = coeficiente de variação, n=17.

Na tabela 3, estão apresentados os dados do efeito de HIIE sobre o equilíbrio redox plasmático. Neste compartimento foram avaliados a concentração plasmática de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, indicador de peroxidação lipídica, e de equivalentes de Fe^{2+}, indicador da capacidade antioxidante total do plasma. Não foi observada diferença significativa na concentração plasmática de TBARS, após o exercício. Já a capacidade antioxidante total do plasma foi significativamente menor imediatamente após o exercício. Estes resultados demonstram que apesar da redução da capacidade antioxidante plasmática em resposta ao HIIE, essa alteração não ocasionou aumento da peroxidação lipídica no plasma.

Tabela 3. Efeito agudo do exercício intervalado de alta intensidade sobre o estado redox plasmático.

	Pré-ex	**Pós-ex**	**P**
TBARS (-1•log [MDA])	2,2 ± 0,4	2,1 ± 0,3	0,29
Equivalentes de Fe^{2+} (µg $FeSO_4$/mg proteína)	2,8 ± 1,5	2,2 ± 0,9*	0,05

Dados expressos em média ± desvio padrão. Pré-ex = antes da sessão de HIIE, pós-ex = imediatamente após a sessão de HIIE. [MDA] = concentração de MDA (malondialdeído), expressa em nmol/mg de proteína. *Significativamente diferente comparado pós *versus* pré-exercício, Teste de Wilcoxon.

Os dados relativos ao efeito de uma sessão de HIIE sobre o estado redox dos eritrócitos estão ilustrados na figura 4. A concentração de TBARS no lisado eritrocitário imediatamente após o exercício (1,64 ± 0,76 nmol de MDA/mg de proteína) foi significativamente menor (p=0,03), quando comparado com valores pré-exercício (2,59 ± 1,40 nmol de MDA/mg de proteína) (fig. 4A). De maneira oposta, a atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase, no lisado eritrocitário, foi significativamente maior (p=0,04) imediatamente após o exercício (2,33 ± 0,71 *versus* 1,73 ± 0,70 U/mg de proteína, pós *versus* pré exercício) (fig. 4B). Não foi observada diferença na atividade da enzima antioxidante catalase após o exercício (fig. 4C). A partir da análise destes dados, verifica-se alteração do estado redox dos eritrócitos em resposta a uma única sessão de exercício intervalado de alta intensidade.

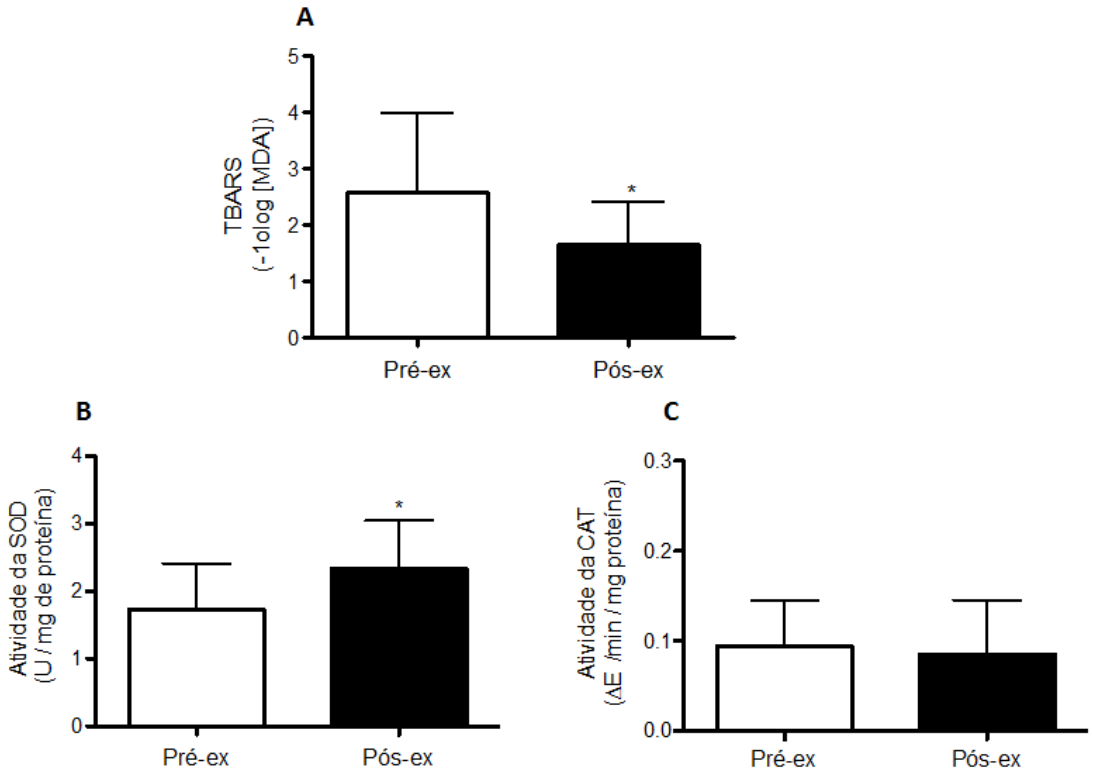

Figura 4. Efeito agudo do exercício intervalado de alta intensidade sobre o estado redox nos eritrócitos (n=17). Em (A), concentração de TBARS, em (B) atividade da enzima superóxido dismutase e em (C), atividade da enzima catalase no lisado eritrocitário. Dados estão expressos como média ± desvio padrão. Pré-ex = antes da sessão de HIIE, pós-ex = imediatamente após a sessão de HIIE. *p≤0,05, pós versus pré-exercício, Teste t pareado.

Na segunda etapa deste estudo, 9 dos 17 voluntários que participaram da sessão aguda de HIIE, passaram por um programa de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), afim de avaliar se esta modalidade de treinamento modularia o estado redox sanguíneo. Os dados referentes às características físicas e fisiológicas dos voluntários que participaram desta segunda etapa do estudo estão apresentadas na tabela 4. Estes dados mostram que os voluntários da segunda etapa atenderam aos critérios de inclusão do estudo (jovens, não treinados e eutróficos), semelhante ao grupo da primeira etapa.

Na tabela 5 estão apresentados os dados do efeito do treinamento sobre as variáveis do desempenho físico, frequência cardíaca (FC) e consumo máximo de oxigênio estimado. Em relação ao desempenho aeróbico, os resultados mostram redução significativa ($p<0,05$) no tempo despendido para pedalar 15 km, indicando dessa forma, melhora no desempenho aeróbico dos voluntários em resposta ao HIIT. De forma semelhante, o HIIT promoveu uma diminuição significativa ($p<0,05$) da FC após o treinamento, resultado que reflete uma adaptação cardiovascular ao HIIT. A respeito do consumo máximo de oxigênio estimado, os

dados são relativos a 8 voluntários, pois a reavaliação após o treinamento de 1 dos 9 voluntários foi realizada por outro avaliador o que interferiu na análise dos dados. Dessa maneira, o HIIT também produziu aumento no VO_2max estimado após o treinamento ($p<0,05$) este achado indica melhora da capacidade aeróbica com o HIIT. Esses dados em conjunto demostram 4 semanas de HIIT promoveram melhora do condicionamento físico dos voluntários.

Tabela 4. Características físicas e fisiológicas dos voluntários que realizaram o treinamento intervalado de alta intensidade.

Variáveis	Média ± DP	CV (%)	Máximo	Mínimo
Idade (anos)	22,1 ± 2,3	10,2	26,0	19,0
Massa corporal (kg)	70,6 ± 11,4	16,1	88,8	53,5
Estatura (cm)	172,2 ± 7,2	4,2	181,0	162,0
Gordura corporal (%)	23,3 ± 5,0	21,4	30,5	16,2
IMC (kg/m^2)	23,6 ± 59,8	23,2	27,1	19,6
VO_2max (mL/kg/min)	48,7 ± 5,6	11,5	56,5	39,7
Desempenho aeróbico (minutos)	42,9 ± 1,9	4,4	45,1	39,5
Glicose (mg/dl)	87,1 ± 9,9	11,4	101,0	266,0
Colesterol total (mg/dl)	181,9 ± 46,9	25,8	70,0	131,0

DP = desvio padrão, CV = coeficiente de variação, n=9.

Tabela 5. Efeito crônico do exercício intervalado de alta intensidade sobre o desempenho físico, consumo máximo de oxigênio estimado e frequência cardíaca.

	Pré-treino	Pós-treino	P
Desempenho aeróbico (min)	42,9 ± 1,9	38,7 ± 2,9*	0,0002
FC ao final do estímulo (bpm)	170, 0 ± 11,0	156,0 ± 12,0*	0,02
VO_2max (mL/kg/min)	48,7 ± 5,6	51,2 ± 4,8*	0,048

Dados estão expressos como média ± desvio padrão. Pré-treino = antes do treinamento, pós-treino = após o treinamento. *p≤0,05, pós *versus* pré-treinamento, Teste t pareado.

Os dados relativos ao efeito do treinamento sobre o equilíbrio redox plasmático estão mostrados na tabela 6. Houve uma tendência (p=0,06) a redução na concentração plasmática de TBARS no plasma após o treinamento. Já a capacidade antioxidante total do plasma, determinada pelo método FRAP, foi significativamente maior (p<0,05) após o HIIT. Estes resultados demonstram que o treinamento intervalado de alta intensidade aumentou a capacidade antioxidante total plasmática.

Tabela 6. Efeito crônico do exercício intervalado de alta intensidade sobre o equilíbrio redox plasmático.

	Pré-treino	Pós-treino	P
TBARS (-1•log [MDA])	2,3 ± 0,3	2,1 ± 0,1	0,06
Equivalentes de Fe^{2+} ($\mu FeSO_4$/mg proteína)	2,3 ± 0,9	3,1 ± 1,4*	0,008

Dados expressos em média ± desvio padrão. Pré-treino = antes do treinamento, pós-treino = após o treinamento (5 dias após a última sessão). [MDA] = concentração de MDA (malondialdeído), expressa em nmol/mg de proteína. *Significativamente diferente comparado pós *versus* pré-treino, Teste de Wilcoxon.

Os dados do efeito do treinamento intervalado de alta intensidade sobre o estado redox no lisado eritrocitário estão ilustrados na figura 5. A concentração de TBARS foi significativamente menor (p=0,05) após o treinamento (1,90 ± 0,92 nmolMDA/mg proteína) comparado com o pré-treinamento (2,74 ± 1,06 nmolMDA/mg proteína) (fig. 5A). De maneira oposta a atividade da enzima antioxidante catalase foi significativamente maior (p=0,03) após o treinamento, comparado com antes do treinamento (0,11 ± 0,04 *versus* 0,16 ± 0,05 ΔE/min/mg proteína, pré *versus* pós-treino) (fig. 5C). Já a atividade da enzima SOD (fig. 5B) não foi diferente após o treinamento (1,98 ± 0,04 U/mg proteína), comparado com a medida antes do início do treinamento (1,58 ± 0,74 U/mg protéina). Semelhante ao que foi observado no plasma, o treinamento intervalado de alta intensidade aumenta a capacidade antioxidante dos eritrócitos e reduz a peroxidação lipídica neste compartimento sanguíneo.

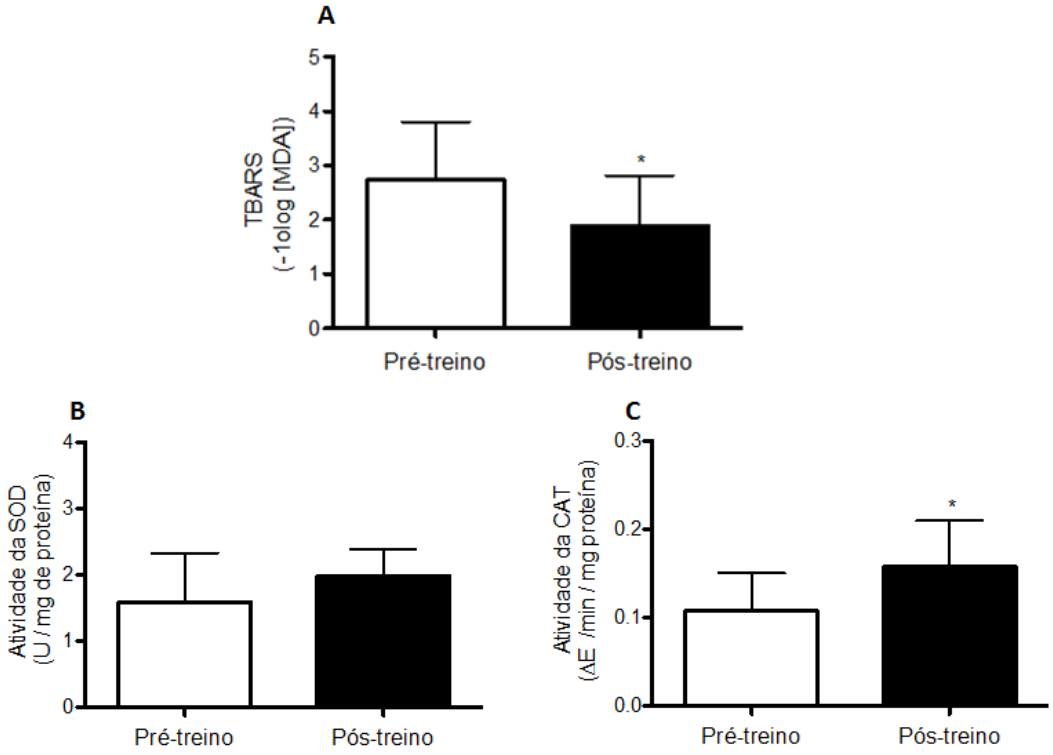

Figura 5. Efeito do treinamento intervalado de alta intensidade sobre o estado redox nos eritrócitos (n=9). Em (A), concentração de TBARS, em (B) atividade da enzima superóxido dismutase e em (C), atividade da enzima catalase no lisado eritrocitário. Dados estão expressos como média ± desvio padrão. Pré-treino = antes do treinamento, pós-treino = após o treinamento (5 dias após a ultima sessão). *p≤0,05, pós versus pré-treino, Teste t pareado.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou os efeitos agudo e crônico de um programa de treinamento intervalado de alta intensidade sobre os parâmetros do equilíbrio redox sanguíneo. Em resposta a uma única sessão de HIIE (efeito agudo) foi observado redução da capacidade antioxidante total do plasma, e da concentração de TBARS no lisado eritrócitário, o que foi acompanhado por aumento da atividade da enzima superóxido dismutase. Em longo prazo, o HIIT promoveu aumento da capacidade antioxidante plasmática total e, nos eritrócitos redução da concentração TBARS e aumento da atividade da enzima catalase.

Existem limitadas informações a respeito do desequilíbrio redox induzido pelo exercício intervalado de alta intensidade, tanto no sangue quanto em outros tecidos, apesar de sua crescente popularidade, especialmente entre não atletas. Dois trabalhos recentes apontam que, diferente dos achados deste estudo, agudamente, o exercício intervalado de alta intensidade está associado ao aumento da peroxidação lipídica e da capacidade antioxidante total do plasma em homens não treinados. Davison, 2011 utilizou um protocolo de exercício baseado no teste de Wingate, no qual os voluntários realizaram 4 *sprints* máximos de 30 segundos, em cicloergômetro, contra uma resistência equivalente a 0,075 kg/kg de massa corporal, intercalados com 4 minutos de recuperação ativa. O autor observou aumento da concentração de TBARS e da capacidade antioxidante plasmática total após o exercício. De maneira semelhante, Bogdanis et al., (2013), que utilizaram o mesmo protocolo de exercício do estudo anteriormente citado, observaram aumento da concentração sérica de TBARS e da capacidade antioxidante total, após o exercício, que se mantiveram elevados por até 48 horas.

Em ambos os trabalhos citados, a sessão de exercício foi baseada no teste de Wingate, que foi, certamente, de maior intensidade quando comparado ao estudo aqui apresentado. No trabalho de Davison, (2011), por exemplo, a potência média desenvolvida durante os *sprints* foi de aproximadamente 500 Watts, muito superior à média de 246 Watts proposta para o HIIE deste estudo. Esta maior intensidade pode ter proporcionado o aumento do TBARS após o exercício relatado nos estudos citados, considerando-se que a produção de EROS é proporcional à intensidade do exercício (Quindry et al., 2003; Bloomer et al., 2007), apesar do aumento da capacidade antioxidante plasmática.

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, como o malondialdeído, têm sido utilizadas como biomarcadores da peroxidação lipídica há mais de 30 anos (Lykkesfeldt, 2007), entre outras razões, devido à simplicidade e ao baixo custo do ensaio. Apesar disso, a validade destes marcadores sempre recebeu muitas críticas, devido, principalmente, a baixa especificidade do ensaio, pois o TBA pode reagir com outros aldeídos não relacionados à peroxidação lipídica, além de carboidratos e prostaglandinas (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 1990). Além disso, a rápida depuração do TBARS do plasma (Jenkins, 2000; Groussard et al., 2003) pode dificultar a obtenção de medidas precisas de MDA. Portanto, é possível que a discordância entre os resultados deste estudo e dos trabalhos citados decorra de limitações da técnica empregada na avaliação da peroxidação lipídica.

Outros estudos, porém, assim como este trabalho, relataram redução da capacidade antioxidante do plasma e a ausência de aumento de peroxidação lipídica após exercício de alta intensidade, que não o exercício intervalado. Falone et al., (2010), por exemplo, avaliaram a capacidade antioxidante total sérica e a concentração de TBARS antes e após um teste progressivo máximo em indivíduos não treinados, e observaram redução da capacidade antioxidante total, avaliado pelo TEAC (capacidade antioxidante em equilivante de Trolox), após o teste progressivo máximo de Bruce. A concentração plasmática de MDA não foi diferente após o teste máximo.

Quindry et al., (2003) também reportaram redução da capacidade antioxidante plasmática após um teste máximo. Indivíduos bem condicionados (VO_2 max = 51,2 ± 6,7 ml/kg/min) realizaram o protocolo de Broeder em esteira, até a fadiga, com velocidade inicial de 3,2 km/hora, que é aumentada a 0,8 km/hora a cada minuto, e inclinação inicial de 0%, que é aumentada para 3%, 6% e 9% nos minutos 4, 6 e 8 do teste. A concentração plasmática de ácido úrico e de ácido ascórbico foi menor imediatamente após o exercício, mas a concentração sérica de MDA não foi alterada imediatamente, 1 ou 2 horas após o exercício.

O ensaio FRAP mede a redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} por ação de substâncias antioxidantes presentes no meio de reação. Segundo Benzie e Strain (1996), a atividade antioxidante do ácido úrico é responsável por 60% da capacidade antioxidante do plasma medida pelo FRAP, e outros antioxidantes plasmáticos, como o ácido ascórbico, α-tocoferol e proteínas plasmáticas contribuem com 15, 5 e 10% para o FRAP, respectivamente. É possível, portanto que, a redução da capacidade antioxidante plasmática total, observada no presente estudo, seja decorrente da redução da concentração plasmática de ácido úrico e de ácido ascórbico, como

relatado por Quindry et al., (2003). A reduzida capacidade antioxidante plasmática observada neste, e no trabalho de Quindry et al., (2003), pode significar que os componentes antioxidantes presentes no plasma foram utilizados na neutralização de espécies reativas geradas durante o exercício, o que explicaria o não aumento da peroxidação lipídica após o exercício. Apesar de não ter sido observado aumento da peroxidação lipídica em resposta a sessão de HIIE, não se pode afirmar que outros componentes plasmáticos, como as proteínas, não tenham sofrido dano oxidativo em resposta a sessão de exercício proposta.

Os eritrócitos são o tipo celular mais comum do sangue e a principal via de transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos corporais. Estas células sempre foram um importante compartimento a ser estudado, em diversas situações, devido ao papel que desempenham em vários processos metabólicos e fisiológicos. Além disso, estas são as células de mais fácil acesso em estudos com humanos, e o sangue é a amostra mais amplamente utilizada nos estudos que avaliam não apenas o efeito do exercício sobe parâmetros de estado redox (Nikolaidis et al., 2007; Margonis et al., 2007), mas em diversos outros contextos. Além disso, foi demonstrado que, dependendo do marcador utilizado, existe uma forte correlação entre a modificação do estado redox observada no sangue e no músculo esquelético, em resposta ao exercício (VESKOUKIS et al., 2009).

A sessão aguda de HIIE também modulou o estado redox dos eritrócitos. Foi observado, após a sessão de HIIE, maior atividade da superóxido dismutase, e menor concentração de TBARS no lisado eritrocitário. Até o momento, nenhum estudo avaliou o efeito agudo do exercício intervalado de alta intensidade sobre a atividade das enzimas antioxidantes nos eritrócitos. Apenas Bogdanis et al., (2013) avaliaram o efeito de uma sessão de HIIE sobre a atividade de enzimas antioxidantes, e observaram aumento da atividade sérica da catalase logo após o exercício. Os autores não investigaram o efeito do HIIE sobre a atividade da SOD.

Recentemente, Nikolaidis et al., (2012) relataram aumento da atividade da SOD dos eritrócitos logo após 45 minutos de corrida na esteira a 70-75% do VO_2max. Como os eritrócitos são incapazes de sintetizar proteínas, a mudança aguda na atividade de enzimas pode ser atribuída a modificações covalentes da proteína, a interações proteína-proteína, ou com espécies reativas de oxigênio ou outras moléculas geradas durante o exercício, que possam mudar o estado redox da proteína. Quais e como fatores produzidos durante o exercício podem modular a atividade das enzimas antioxidantes ainda precisa ser investigado.

A produção de espécies reativas nos eritrócitos durante o exercício ocorre em consequência do aumento do transporte de oxigênio, para atender a maior demanda do músculo em contração (DAVIES et al., 1982). A oxidação da hemoglobina produz ânion superóxido, que é transformado em peróxido de hidrogênio pela superóxido dismutase. Como em outras células, a catalase e a glutationa peroxidase neutralizam o peróxido de hidrogênio, catalisando sua conversão em oxigênio e água. A redução da peroxidação lipídica nos eritrócitos após o HIIE foi, inicialmente, um resultado inesperado, considerando o aumento da demanda de oxigênio em função do exercício. Porém, outros estudos relatam redução na peroxidação lipídica em eritrócitos após exercício de alta intensidade, como Ajmani et al., (2003), que observaram redução de produtos fluorescentes da peroxidação lipídica, resultante da ligação cruzada do malondialdeído com os grupamentos amino da fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina, nos eritrócitos, após o teste de Bruce, um teste progressivo máximo.

Evidências indicam que a prática habitual de atividades físicas moderadas reduz a incidência de doenças relacionadas ao desequilíbrio redox e retarda o envelhecimento (JI; GOMEZ-CABRERA; VINA, 2006, LAUKKANEN et al., 2009). Esta relação decorre, possivelmente, das adaptações nos sistemas de defesa antioxidante induzidas pelo treinamento físico (KNEZ; COOMBES; JENKINS, 2006; RADAK; CHUNG; GOTO, 2008). Neste contexto, diversos estudos têm demonstrado diferenças nos componentes de defesa antioxidantes plasmáticos e nas enzimas antioxidantes eritrocitárias de indivíduos treinados e não treinados (FIELDING; MEYDANI, 1997, URSO; CLARKSON, 2003; FALONE et al., 2010).

Apesar dos múltiplos benefícios a saúde decorrentes da prática regular de atividades físicas (Holloszy; Booth, 1976; Holloszy; Coyle, 1984; Starritt; Angus; Hargreaves, 1999), a falta de tempo e de motivação estão entre os principais motivos alegados por indivíduos que não conseguem estabelecer uma rotina de prática de atividades físicas (KORKIAKANGAS; ALAHUHTA; LAITINEN, 2009). Neste sentido, o HIIT tem se mostrado como uma alternativa para o problema da reduzida disponibilidade de tempo para a prática regular de atividade física (GIBALA et al., 2012). Assim como ocorre em resposta aos programas de treinamento de *endurance* de alto volume, o HIIT também promove aumento da capacidade oxidativa do músculo esquelético e melhora da função cardiovascular, apesar do menor volume de treino e menor comprometimento de tempo (BURGOMASTER et al., 2008; RAKOBOWCHUK et al., 2008). O protocolo de HIIT utilizado neste estudo promoveu melhora do condicionamento aeróbico (aumento do VO_2max) e do desempenho físico

(redução no tempo para completar o teste de 15km), como relatado por outros (BURGOMASTER et al., 2005; LITTLE et al., 2010).

Assim, mudanças em marcadores de estado redox em resposta ao HIIT foram também avaliados neste estudo. O principal achado do presente trabalho foi o aumento da capacidade antioxidante plasmática, e a redução da concentração de TBARS no lisado eritrocitário, associado ao aumento da atividade da catalase após o treinamento.

Bogdanis et al., (2013) publicaram um estudo no qual avaliou-se o efeito do HIIT sobre marcadores do estado redox plasmático em homens não treinados. Os indivíduos passaram por um programa de HIIT de 3 semanas (9 sessões de treinamento), baseado no teste de Wingate. Em resposta ao treinamento foi observado, assim, como no presente estudo, aumento da capacidade antioxidante do plasma e redução na concentração plasmática de TBARS. Embora não tenha sido encontrada diferença significativa, houve uma tendência de redução ($p=0,06$) no TBARS no plasma em resposta ao HIIT neste trabalho. Mais recentemente, Vezzoli et al., (2014) também avaliaram o efeito de um programa de HIIT, de 8 semanas de duração (24 sessões), sobre os marcadores plasmáticos de desequilíbrio redox. Assim como Bogdanis et al., (2013), a concentração plasmática de TBARS foi reduzida pelo treinamento, mas os autores não observaram alteração na capacidade antioxidante total, o que pode ser atribuído às diferenças entre os protocolos de treinamento utilizados, e também às metodologias de determinação dos parâmetros em estudo.

Até o momento, nenhum estudo avaliou o efeito do HIIT no estado redox eritrócitário. Contudo, Miyazaki et al., (2001) avaliaram o efeito de um programa de treinamento de 12 semanas, que consistiu de 60 minutos de corrida, 5 vezes por semana, a 80% da frequência cardíaca máxima, sobre marcadores de dano oxidativo e atividade de enzimas antioxidantes em eritrócitos. Como neste estudo, os autores observaram diminuição do TBARS no lisado eritrocitário após o treinamento, porém, o treinamento promoveu o aumento da atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase e não da catalase.

Segundo Watson; Macdonald-Wicks; Garg, (2005) o aumento da capacidade antioxidante em indivíduos treinados pode ser resultado de uma mobilização dos antioxidantes dos tecidos para a circulação sistêmica. Neste contexto, a redução da peroxidação lipídica aqui observada, em resposta ao HIIT, pode ser resultante de uma maior mobilização de antioxidantes, como indicado pelo aumento da capacidade antioxidante do plasma. Ainda, considerando que a catalase parece ser a enzima mais importante na remoção

de grandes quantidades de peróxido de hidrogênio nos eritrócitos (Mueller; Riedel; Stremmel, 1997), o aumento da atividade desta enzima, em resposta ao HIIT, pode ter também contribuído para a redução dos níveis basais de peroxidação lipídica nestas células.

Em resumo, as modificações do estado redox sanguíneo alcançadas em curto prazo com o programa de HIIT utilizado neste estudo podem ser consideradas uma resposta benéfica adicional para a esta modalidade de treinamento, e neste contexto o HIIT pode ter um papel terapêutico nas condições clínicas decorrentes ou associados a um quadro de desequilíbrio redox.

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que uma sessão aguda de exercício intervalado de alta intensidade não promoveu aumento da peroxidação lipídica, apesar da redução da capacidade antioxidante plasmática. Além disso, o treinamento intervalado de alta intensidade reduziu a peroxidação lipídica e aumentou a capacidade antioxidante sanguínea de indivíduos não treinados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJMANI, R. S. et al. Oxidative stress and hemorheological changes induced by acute treadmill exercise. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v.28, p.29-40, 2003.

ALLEN, R. G.; TRESINI, M. Oxidative stress and gene regulation. **Free Radic Biol Med**, v.28, p.463-499, 2000.

ALESSIO, H. M. et al. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v.32, n.9, p.1576-81, 2000.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE POSITION STAND. Exercise and Fluid Replacement. **Medicine Science Sports Exercise**, v.39, n.2, p.377-390, 2007.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. **Guidelines for Exercise Testing and Prescription.** 8 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009.

ARMSTRONG, L. E. **Performing in Extreme Environments**. 1 ed. Champaign IL: Human Kinects, 2000.

ASHTON, T. et al. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. **Eur J Appl Physiol**, v.77, p.498-502, 1998.

BALLIGAND, J. L.; FERON, O.; DESSY, C. eNOS activation by physical forces: from short-term regulation of contraction to chronic remodeling of cardiovascular tissues. **Physiological Reviews**, Bethesda, v.89, p.481-534, 2009.

BARTLETT, J. D. et al. High-intensity interval running is perceived to be more enjoyable than moderate-intensity continuous exercise: implications for exercise adherence. **J Sports Sci**, v.29, p.547-553, 2011.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ‘‘Antioxidant Power’’: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, p.70-76, 1996.

BERLETT, B. S.; STADTMAN, E. R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. **J Biol Chem**, v.272, n.33, p.20313-6, 1997.

BJORNSTEDT, M. et al. Selenium and the thioredoxin and glutaredoxin systems. **Biomed Environ Sci**, v.10, p.271-279, 1997.

BLOOMER, R. J. et al. Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. **International Journal of Sports Medicine**, v.28, n.1, p.21-25, 2007.

BLOOMER, R. J. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. **Adv Clin Chem**, v.46, p.1-50, 2008.

BOGDANIS, G. C. et al. Short-term high-interval intensity exercise training attenuates oxidative stress response and improves antioxidant status in healthy humans. **Food Chem Toxicol**, v.61, p.171-7, 2013.

BORG, G. **Perceived exertion and pain scales**. Champaign IL: Human Kinetics; 1998.

BOVERIS, A.; CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. **Biochem J**, v.134, n.3, p.707-16, 1973.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Anal Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRAND, M. D. et al. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, activation of uncoupling proteins. **Free Radic Biol Med**, v.37, p.755-767, 2004.

BRAND, M. D. The sites and topology of mitochondrial superoxide production. **Exp Gerontol**, v.45, p.466-472, 2010.

BRIGELIUS-FLOHE, R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. **Biol Chem**, v.387, p.1329-1335, 2006.

BURGOMASTER, K. A. et al. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. **J. Appl. Physiol**, v.98, p.1985-1990, 2005.

BURGOMASTER, K. A.; HEIGENHAUSER, G. J.; GIBALA, M. J. Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time-trial performance. **J. Appl. Physiol**, v.100, p. 2041-2047, 2006.

BURGOMASTER, K. A. et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. **J Physiol**, v.586, p.151-160, 2008.

BURKE, T. M.; WOLIN, M. S. Hydrogen peroxide elicits pulmonar arterial relaxation and guanylate cyclase activation. **American Journal Physiology-Heart and circulatory Phisiology**, Bethesda, v.252, n.4, p.721-32, 1987.

CACHIA, O. et al. Alpha-tocopherol inhibits the respiratory burst in human monocytes. Attenuation of p47(phox) membrane translocation and phosphorylation. **J Biol Chem**, v.273, p.32801-5, 1998.

CANADA´S PHYSICAL ACTIVITY GUIDE TO HEALTHY ACTIVE LIVING. **Handbook for canada´s physical activity guide to healthy active living**. Disponível em: <http://www.physicalactivityplan.org/resources/CPAG.pdf>. Acesso em: 05 out. 2014.

CELERMAJER, D. S. et al. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. **J Am Coll Cardiol**, v.24, p.1468-1474, 1994.

CHENG, K. C. et al. 8-hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G—T and A—C substitutions. **J Biol Chem**, v.267, p.166-172, 1992.

COOKE, M. S. et al. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. **FASEB J**, v.17, p.1195-1214, 2003.

DAVIES, K. J. A. et al. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.107, p.1198-1205, 1982.

DAVISON, G. Innate immune response to a single session of sprint interval training. **Appl Physiol Nutr Metab**, v.36, 2011.

DILLARD, C. J. et al. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. **J Appl Physiol**, v.45, p.927-932, 1978.

DI MEO, S.; VENDITTI, P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. **Biol Signals Recept**, v.10, p.125-140, 2001.

DRAPER. H.; HADLEY, M. A review on recente studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. **Xenobiotica**, Londres, v.20, n.9, p.901-10, 1990.

ELOSUA, R. et al. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men. **Atherosclerosis**, v.167, 327-334, 2003.

ESPINOSA, A. et al. Myotube depolarization generates reactive oxygen species through NAD(P)H oxidase; ROS-elicited Ca2+ stimulates ERK, CREB, early genes. **J Cell Physiol**, v.209, n.2, p.379-88, 2006.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radic Biol Med**, v.11, p.81-128, 1991.

FALONE, S. et al. Differential impact of acute bout of exercise on redox- and oxidative damage-related profiles between untrained subjects and amateur runners. **Physiol Res**, v.59, p.953-961, 2010.

FARNEY, T. R. M. et al. Absence of blood oxidative stress in trained men after strenuous exercise. **Med. Sci. Sports Exerc**, v. 44, n.10, p.1855-1863, 2012.

FATOUROS, I.G. et al. Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. **Med Sci Sports Exerc**, v.36, n.12, p.2065-2072, 2004.

FIELDING, R. A.; MEYDANI, M. Exercise, free radical generation, and aging. **Aging (Milano)**, v.9, n.1-2, p.12-8, 1997.

FISHER-WELLMAN, K.; BLOOMER, R. J. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. **Dyn Med**, v.8, n.1, p.1-25, 2009.

FRIDOVICH, S.; PORTER, N. Oxidation of arachidonic acid in micelles by superoxide and hydrogen peroxide. **The Journal of Biological Chemistry**, v.256, p.260-265, 1981.

FRIDOVICH, I. Superoxide dismutases. **Annu Rev Biochem**, v.44, p.147-59, 1975.

GATÉ, L. et al. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. **Biomed & Pharmacother**, v.53, p.169-80, 1999.

GEORGE, A. et al. Erythrocyte NADPH oxidase activity modulated by Rac GTPases, PKC, and plasma cytokines contributes to oxidative stress in sickle cell disease. **Blood**, v.121, n.11, 2099-107, 2013.

GIBALA, M. J. et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. **J Physiol**, v.575, p.901-911, 2006.

GIBALA, M. J. et al. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. **J Physiol**, v.1, n.590, p.1077-84, 2012.

GIBALA, M. J.; MCGEE, S. L. Metabolic adaptations to short-term high-inten-sity interval training: a little pain for a lot of gain?. **Exerc Sport Sci Rev**, v.36, p.58-63, 2008.

GILLEN, J. B.; GIBALA, M. J. Is high-intensity interval training a time-efficient exercise strategy to improve health and fitness? **Appl. Physiol. Nutr. Metab**, v.39, p.409-412, 2014.

GLASS, G. A.; GERSHON, D. Enzymatic changes in rat erythrocytes with increasing cell and donor age: loss of superoxide dismutase activity associated with increases in catalytically defective forms. **Biochem Biophys Res Commun**, v.103, n.4, p.1245-53, 1981.

GODIN, G. et al. Differences in perceived barriers to exercise between high and low intenders: observations among diferente populations. **Am J Health Promotion**, v.8, p.279-284,1994.

GROUSSARD, C. et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. **Eur J Appl Physiol**, v.89, p.14-20, 2003.

GUTTERIDGE, J. M.; HALLIWELL, B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. **Trends Biochem. Sci**, v.15, p.129-135, 1990.

HALLIWELL, B. Free radicals, proteins and DNA: oxidative damage versus redox regulation. **Biochem Soc Trans**, v.24, n.4, p.1023-7, 1996.

HALLIWELL, B. How to characterize an antioxidant: an update. **Biochemical Society Symposium**, Londres, v. 6, p.73-101, 1995.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. **Am J Med**, v.91, n.3C, p.14S-22S, 1991.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, significance. **Am J Clin Nutr**, v.57, p.715S-725S, 1993.

HALLIWELL, B.; CROSS, C. E. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. **Environ Health Perspect**, v.102, suppl.10, p.5-12, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in biology and medicine**. 4 ed. Oxford, UK: Oxford University. Press, 2007, p.888.

HEHNER, S.P. et al. Enhancement of T cell receptor signaling by a mild oxidative shift in the intracellular thiol pool. **J Immunol**, v.165, n.8, p.4319-4328, 2000.

HERRERO, A.; BARJA, G. ADP-regulation of mitochondrial free radical production is different with complex I- or complex II-linked substrates: implications for the exercise paradox and brain hypermetabolism. **J Bioenerg Biomembr**, v.29, p.241-249, 1997.

HIDALGO, C. et al. A transverse tubule NADPH oxidase activity stimulates calcium release from isolated triads via ryanodine receptor type 1 S-glutathionylation. **J Biol Chem**, v.281, p.26473-26482, 2006.

HOCHSTEIN, P.; JAIN, S.K. Association of lipid peroxidation and polymerization of membrane proteins with erythrocyte aging. **Federation Proceedings**, v.40, n.2, p.183-188, 1981.

HOLLOSZY, J. O.; BOOTH, F. W. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. **Annu Rev Physiol**, v.38, p.273-291, 1976.

HOLLOSZY, J. O.; COYLE, E. F. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. **J Appl Physiol**, v.56, p.831-838, 1984.

JENKINS, R. R. Exercise and oxidative stress methodology: a critique. **Am. J. Clin Nutr**, v.72, p.670S-674S, 2000.

JI, L. L.; GOMEZ-CABRERA, M. C.; VINA, J. Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. **Ann N Y Acad Sci**, v.1067, p.425-35, 2006.

JOHNSON, R. M. et al. Hemoglobin autoxidation and regulation of endogenous H_2O_2 levels in erythrocytes. **Free Radic Biol Med**, v.39, p.1407-17, 2005.

KANTER, M. M. Free radicals and exercise: effects of nutritional antioxidant supplementation. **Exerc Sport Sci Rev**, v.23, p.375-397, 1995.

KANTER, M. M. et al. Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. Relationship to lipid peroxidation. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v.57, n.1, p.60-3, 1988.

KASAI, H. et al. Formation of 8-hydroxyguanine in celular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. **Carcinogenesis**, v.8, p.1849-51, 1986.

KAVAZIS, A. N. et al. Mechanical ventilation induces diaphragmatic mitochondrial dysfunction and increased oxidant production. **Free Radic Biol Med**, v.46, n.6, p.842-50, 2009.

KEHLER, J. P. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. **Critical Reviews in Toxicology**, Londres v. 23, p. 21-7, 1989.

KIRKMAN, H. N.; GAETANI, G. F. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. **Trends Biochem Sci**, v.32, p.44-50, 2007.

KNEZ, W. L.; COOMBES, J. S.; JENKINS, D. G. Ultra-endurance exercise and oxidative damage: implications for cardiovascular health. **Sports Med**, v.36, n.5, p.429-4, 2006.

KNIGHT, J.A. **Free Radicals, Antioxidants, Aging, and Disease**. Washington: American Association for Clinical Chemistry Press, 1999.

KOBZIK, L. et al. Endothelial type nitric oxide synthase in skeletal muscle fibers: mitochondrial relationships. **Biochem Biophys Res Commun**, San Diego, v.211, p.375-381, 1995.

KOBZIK, L. et al. Nitric oxide in skeletal muscle. **Nature**, v.372, p.546-548, 1994.

KÖNIG, D. et al. Exercise and oxidative stress: significance of antioxidants with reference to inflammatory, muscular, and systemic stress. **Exerc Immunol Rev**, v.7, p.108-133, 2001.

KORKIAKANGAS, E. E.; ALAHUHTA, M. A.; LAITINEN, J. H. Barriers to regular exercise among adults at high risk or diagnosed with type 2 diabetes: a systematic review. **Health Promotion International**, v.24, p.416-427, 2009.

LAMBETH, J. D. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. **Nat. Rev. Immunol**, v.4, p.181-189, 2004.

LAUKKANEN, J. A. et al. Determinants of cardiorespiratory fitness in men aged 42 to 60 years with and without cardiovascular disease. **Am J Cardiol**, v.103, n.11, p.1598-604, 2009.

LILIUS , E. M.; MARNILA, P. Photon emission of phagocytes in relation to stress and disease. **Experientia,** v.48, n.11-12, p.1082-1091, 1992.

LITTLE, J. P. et al. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. **J Physiol**, v.588, p.1011-1022, 2010.

LOSCHEN, G. et al. Superoxide radicals as precursors of mitochondrial hydrogen peroxide. **FEBS Lett**, v.42, n.1, p.68-72, 1974.

LYKKESFELDT, J. Malonaldehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. **Clinic. Chim. Acta**, v.380, p.50-58, 2007.

LYNCH, R. E.; FRIDOVICH, I. Permeation of the erythrocyte stroma by superoxide radical. **J Biol Chem**, v.253, n.13, p.4697-9,1978.

MARGONIS, K. et al. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis. **Free Radic Biol Med**, v.43, n.6, p.901-10, 2007.

MARKLUND, S. L.; HOLME, E.; HELLNER, L. Superoxide dismutase in extracellular fluids. **Clinica Chimica Acta**, v.24, n.126(1), p.41-51, 1982.

MEYER, M.; PAHL, H. L.; BAEUERLE, P. A. Regulation of the transcription factors NF-kappa B and AP-1 by redox changes. **Chem Biol Interact**, v.91, p.91-100, 1994.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. **J. Biol. Chem**, v.247, p.6960-6962, 1972.

MIYAZAKI, H. et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. **Eur J Appl Physiol**, v.84, n.1-2, p.1-6, 2001.

MOROZOV, V. I.; PRYATKIN, S. A.; KALINSKI, M. I. Effect of exercise to exhaustion on myeloperoxidase and lysozyme release from blood neutrophils. **Eur J Appl Physiol**, v.89, n.3-4, p.257-62, 2003.

MUELLER, S.; RIEDEL, H. D.; STREMMEL, W. Direct evidence for catalase as the predominant H_2O_2-removing enzyme in human erythrocytes. **Blood**, v.90, p.4973-4978, 1997.

MYERS, J. et al. A nomogram to predict exercise capacity from a specific activity questionnaire and clinicla data. **Am J Cardiol**, v.73, n.8, p.591-6, 1994.

MYERS J. **Essentials of cardiopulmonary exercise testing**. 1ed. Champaign, IL: Human Kinetics, 1996.

NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C (with Molar extinction coefficients of H_2O_2 solutions in the UV). **Analytical Biochemistry**, v.49, p.474-478, 1972.

NIESS, A. M. et al. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. **Int J Sports Med**, v.17, n.6, p.397-403, 1996.

NIKOLAIDIS, M. G. et al. Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. **Appl. Physiol. Nutr. Metab**, v.32, p.197-205, 2007.

NIKOLAIDIS, M. G. et al. Exercise as a model to study redox homeostasis in blood: the effect of protocol and sampling point. **Biomarkers**, v.17, n.1, p.28-35, 2012.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for Lipid Peroxides in animal tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. **Analytical Biochemistry**, v.95, p.351-358, 1979.

POULSEN, H. E.; LOFT, S.; VISTISEN, K. Extreme exercise and oxidative DNA modification. **J Sports Sci**, v.14, n.4, p.343-6, 1996.

QUINDRY, J. C. et al. The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. **Med Sci Sports Exerc**, v.35, n.7, p.1139-1145, 2003.

RADAK, Z. et al. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. **Exerc Immunol Rev**, v.7, p.90-107, 2001.

RADAK, Z.; CHUNG, H. Y.; GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radical Biology and Medicine**, v.44, n.2, p.153-159, 2008.

RADAK, Z. et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. **Free Rad Biol Med**, v.27, p.69-74, 1999.

RAKOBOWCHUK, M. Sprint interval and traditional endurance training induce similar improvements in peripheral arterial stiffness and flow-mediated dilation in healthy humans. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 295, p.R236-R242, 2008.

RIETJENS, I. M. C. M.; BOERSMA, M. G.; HAAN, L. D. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.11, n.3-4, p.321-333, 2002.

SAKELLARIOU, G. K. et al. Studies of mitochondrial and nonmitochondrial sources implicate nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase(s) in the increased skeletal muscle superoxide generation that occurs during contractile activity. **Antioxid Redox Signal**, v.18, n.6, 603-21, 2013.

SAKELLARIOU, G. K.; JACKSON, M. J.; VASILAKI, A. Redefining the major contributors to superoxide production in contracting skeletal muscle. The role of NAD(P)H oxidases. **Free Radic Res**, v.48, n.1, p.12-29, 2014.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Exp Physiol**, v.82, p.291-295, 1997.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, p.1315S-1321S, 1995.

SNYDER, L. M.; FORTIER, N. L; TRAINOR, J. Effect of hydrogen peroxide exposure on normal human erythrocyte deformability, morphology, surface characteristics, and spectrin-hemoglobin cross-linking. **J Clin Invest**, v.76, p.1971-7, 1985.

SRIVASTAVA, S. et al. Downregulation of CuZn-superoxide dismutase contributes to β-adrenergic receptor-mediated oxidative stress in the heart. **Cardiovascular Research**, v.74, n.3, p.445-55, 2007.

STARRITT, E. C.; ANGUS, D.; HARGREAVES, M. Effect of short-term training on mitochondrial ATP production rate in human skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v.86, p.450-454, 1999.

STEINBERG, J. G.; DELLIAUX, S.; JAMMES, Y. Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. **Clin Physiol Funct Imaging**, v.26, n.2, p.106-12, 2006.

ST-PIERRE, J. et al. Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. **J Biol Chem**, v.277, p.44784-44790, 2002.

SUN, Y.; OBERLEY, L. W. Redox regulation of transcriptional activators. **Free Radic Biol Med**, v.21, n.3, p.335-48, 1996.

SUWAIDI, J. A. et al. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endotelial dysfunction. **Circulation**, v.101, p. 948-954, 2000.

TAKAHASHI, M. et al. Effects of different intensities of endurance exercise on oxidative stress and antioxidant capacity. **J Phys Fitness Sports Med**, v.1, n.1, p.183-189, 2012.

TELEN, M. J.; KAUFMAN, R. E. **The mature erythrocyte**. In: Greer, J. P.; Foerster, J.; editors. Wintrobe's clinical hematology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. p. 217-247.

TROST, S. G. et al. Correlates of adults participation in physical activity: review and update. **Med Sci Sports Exerc**, v.34, p.1996-2001, 2002.

UCHIDA, K.; STADTMAN, E. R. Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra- and intermolecular cross-linking reaction. **J. Biol. Chem**, v.268, p.6388-6393, 1993.

UCHIYAMA, M.; MIHARA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Analytical biochemistry,** v.86, p.271-278, 1978.

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

VALENZUELA, A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. **Life Sciences**, Amsterdam, v.48, n.4, p.301-309, 1991.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxid ants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol**, v.39, n.1, p.44-84, 2007.

VESKOUKIS, A. S. et al. Blood reflects tissue oxidative stress depending on biomarker and tissue studied. **Free Radic Biol Med**, v.47, n.10, p.1371-4, 2009.

VEZZOLI, A. et al. Time-Course Changes of Oxidative Stress Response to High-Intensity Discontinuous Training versus Moderate-Intensity Continuous Training in Masters Runners. **Plos One**, v.9, n.1, p,1-9, 2014.

VINA, J.; GIMENO, A.; SASTRE, J. Mechanism of free radical production in exhaustive exercise in humans and rats; role of xanthine oxidase and protection by allopurinol. **IUBMB Life**, v.49, n.6, p.539-44, 2000.

VOLLAARD, N. B. J.; REEDER, B. J. SHEARMAN, J. P. A new sensitive assay reveals that hemoglobin is oxidatively modified in vivo. **Free Radic Biol Med**, v.39, n.9, p.1216-28, 2005.

VOLLAARD, N.B.; SHEARMAN, J.P.; COOPER, C.E. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. **Sports Med**, v.35, n.12, p.1045-1062, 2005.

WALLACE, W. J.; MAXWELL, J. C.; CAUGHEY, W. S. A role for chloride in the autoxidation of hemoglobin under conditions similar to those in erythrocytes. **FEBS Ltt**, v.43, n.1, p.33-36, 1974a.

WALLACE, W. J.; MAXWELL, J. C.; CAUGHEY, W. S. The mechanisms of hemoglobin autoxidation evidence for proton-assisted nucleophilic displacement of superoxide by anions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.57, n.4, p.1104-1110, 1974b.

WATSON, T. A.; MACDONALD-WICKS, L. K.; GARG, M. L. Oxidative stress and antioxidants in athletes undertaking regular exercise training. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v.15, p.131-146, 2005.

WENZ, T., ROSSI, S.; ROTUNDO, R. L. Increased muscle PGC-1α expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging. **PNAS**, v.106, p.20405-20410, 2009.

WHIPP, B. J. et al. A test to determine parameters of aerobic function during exercise. **Journal Applied Physiology**, v.50, p.217-21, 1981.

XIA, R. et al. Skeletal muscle sarcoplasmic reticulum contains a NADH-dependent oxidase that generates superoxide. **Am J Physiol Cell Physiol**, v.285, p.C215-C221, 2003.

YOON, B. K.; KRAVITZ, L.; ROBERGS, R. A. VO_2max, protocol duration, and the VO2 plateau. **Medicine Science Sports Exercise**, v.39, n.7, p.1186-92, 2007.

ZÁMOCKÝ, M.; KOLLER F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and *in vitro* mutagenesis. **Prog Biophys Mol Biol**, v.72, n.1, p.19-66, 1999.

ZHOU, L. Z.; JOHNSON, A. P.; RANDO, T. A. NFκB and AP-1 mediate transcriptional responses to oxidative stress in skeletal muscle cell. **Free Radic Biol Med**, v.31, n.11, p.1405-1416, 2001.

ZOUHAL, H. et al. Adrenal medulla responsiveness to the sympathetic nervous activity in sprinters and untrained subjects during a supramaximal exercise. **Int J Sports Med**, v.19, p.172-176, 1998.

APÊNDICE A

Lista de alimentos padronizada para a realização do desjejum 2 horas antes do teste.

1) 1 pão de sal, opção de substituição: 2 fatias de pão de forma
2) 1 fatia de muçarela, opção de substituição: 1 fatia de queijo prato
3) 3 torradas, opção de substituição: 5 biscoitos cream cracker
4) 3 colheres de geleia de fruta, opção de substituição: variar o sabor
5) 1 copo duplo de suco de pêssego, uva, manga, morango, abacaxi na quantidade de 240 ml
6) 1 fatia grande de mamão, ou uma fatia de abacaxi ou uma banana

ANEXO A

Questionário de Prontidão para Atividade Física (PAR-Q)

1 - Seu médico já mencionou alguma vez que você tem uma condição cardíaca e que você só deve realizar atividade física recomendada por um médico?

( )Sim ( )Não

2 – Você sente dor no tórax quando realiza atividade física?

( )Sim ( )Não

3 – No mês passado (ou num período recente), você teve dor torácica quando não estava realizando atividade física?

( )Sim ( )Não

4 – Você perdeu o equilíbrio por causa de tontura ou alguma vez perdeu a consciência?

( )Sim ( )Não

5 – Você tem algum problema ósseo ou de articulação que poderia piorar em conseqüência de uma alteração em sua atividade física?

( )Sim ( )Não

6 – Seu médico está prescrevendo medicamentos (Ex., pílulas) para sua pressão arterial ou condição cardíaca?

( )Sim ( )Não

7 – Você conhece alguma outra razão que não o permita praticar atividade física?

( )Sim ( )Não

Li entendi e completei este questionário. Todas as dúvidas que tive foram respondidas satisfatoriamente.

Data: ____/____/_____ Assinatura do responsável: _____

Nome:_____

Assinatura: _____

Anexo B

Questionário para avaliação do risco coronariano

Fatores de Risco Para Doença Cardiovascular Aterosclerótica (CVD) Limiares para uso de Estratificação de Risco do ACSM (2009)			
Fatores de Risco positivos	**Critérios definindos**	**Sim**	**Não**
Idade	Homem ≥45 anos; Mulher ≥55 anos		
Histórico Familiar	Infarto do miocárdio, revascularização coronariana, ou morte súbita antes de 55 anos de idade em pai ou outro parente de primeiro-grau masculino, ou antes de 65 anos de idade em mãe ou outra parente de primeiro-grau feminino		
Cigarros Fumados	Fumante de cigarro atual ou que deixaram dentro dos 6 meses prévios ou exposição a fumaça de tabaco ambiental		
Estilo de Vida Sedentário	Não praticante de atividade física de intensidade moderada (40%-60%) de no mínimo 30 min, pelo menos três dias da semana durante pelo menos três meses		
Obesidade	IMC ≥30 $kg \cdot m^2$ ou circunferência da cintura >102 cm (40 polegadas) para homens >88 cm (35 polegadas) para mulheres		
Hipertensão	Pressão arterial sistólica ≥140 mm Hg e/ou diastólica ≥90 mm Hg, confirmada por medidas em duas situações separadas ou em uso de medicamento anti-hipertensivo		
Dislipidemia	LDLl ≥130 $mg \cdot dL^{-1}$ (3.37 $mmol \cdot L^{-1}$) ou HDL-C <40 $mg \cdot dL^{-1}$ (1.04 $mmol \cdot L^{-1}$) ou em medicamento lipídio-redutor. Se colesterol de soro total é ≥200 $mg \cdot dL^{-1}$ (5.18 $mmol \cdot L^{-1}$)		

Pré Diabetes	Glicose de jejum aumentada (IFG) = glicose de plasmática de jejum ≥100 $mg \cdot dL^{-1}$ (5.50 $mmol \cdot L^{-1}$) mas <126 $mg \cdot dL^{-1}$ (6.93 $mmol \cdot L^{-1}$) ou tolerância de glicose (IGT) = 2 horas valores em teste de tolerância de glicose oral (OGTT) ≥140 $mg \cdot dL^{-1}$ (7.70 $mmol \cdot L^{-1}$) <200 $mg \cdot dL^{-1}$ (11.00 $mmol \cdot L^{-1}$) confirmado por medidas em pelo menos duas ocasiões separadas		
Fator Negativo de Risco	**Critérios definidos**		
Colesterol HDL aumentado	≥60 $mg \cdot dL^{-1}$ (1.55 $mmol \cdot L^{-1}$)		
Nota: é comum somar os fatores de risco na decisão clínica. Se o HDL é aumentado subtraia um fatores de risco na soma dos fatores de risco positivos, pois o HDL aumentado diminui os riscos de doenças cardiovasculares. Opiniões profissionais podem variar no marcador ou limiar mais apropriado para definir obesidade, sendo assim, profissionais da área de saúde devem usar o julgamento clínico quando avaliando os fatores de risco.			

Data: ____/____/_____ Assinatura do responsável: _____

Nome:_____

Assinatura: _____