



MELHORIA DO ESTRESSE OXIDATIVO EM REPOSTA A UM PROGRAMA DE TREINAMENTO AERÓBIO É ANTERIOR À REDUÇÃO DA GLICEMIA

Valter Azevedo Pereira; Douglas Cavalcante Silva; Alyce Rodrigues de Souza; Eder Jackson Bezerra de Almeida Filho; Alexandre Sérgio Silva.

Universidade Federal da Paraíba

valtera@ccs.ufpb.br

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar o efeito de um programa de treinamento aeróbio de 12 semanas sobre a glicemia e estresse oxidativo em diabéticos tipo 2. **MÉTODOS:** 13 voluntários, previamente sedentários de ambos os sexos com idade entre 45 e 60 anos e IMC de 28 ± 4 Kg/m² foram randomicamente divididos em dois grupos, controle (GC; n= 6) e exercício (GE; n= 7). O GE realizou 12 semanas de treinamento aeróbio com frequência de três sessões por semana, com duração de 20 a 60 minutos por sessão e intensidade entre 50 e 70% da frequência cardíaca máxima. Os dois grupos foram submetidos a teste cardiorrespiratório, avaliação da composição corporal e coleta sanguínea para análise da glicemia de jejum (GJ), da peroxidação lipídica (MDA) e capacidade antioxidante total (CAT), antes e depois do período de treinamento. Os dados foram tratados por meio dos testes de Wilcoxon ou t pareado para comparar os momentos e teste U de Man Whitney ou teste t independente para comparar os resultados dos grupos, conforme o caso. **RESULTADOS:** O programa de treinamento promoveu um aumento descritivo de 12% no Vo₂máx que foi significativamente maior que o grupo controle, esse aumento foi acompanhado de uma redução significativa no MDA de $3,05 \pm 1,1$ uM para $1,8 \pm 1$ uM. A glicemia e a CAT não se alteraram com o programa de treinamento ($167,4 \pm 45$ mg/dl para $146,2 \pm 47$ mg/dl; p= 0.38) e ($25,85 \pm 13,6\%$ para $30,4 \pm 9,27\%$ com p=0,45), respectivamente. **CONCLUSÃO:** Um programa de treinamento aeróbio de 12 semanas promove redução significativa do estresse oxidativo, a despeito de melhoria apenas descritiva da glicemia e da capacidade antioxidante total.

Palavras-chave: Diabetes, exercício físico, estresse oxidativo.



INTRODUÇÃO

O desfecho do diabetes não é resultante apenas da hiperglicemia crônica, mas também da alta concentração de espécies reativas de oxigênio e consequentemente do estresse oxidativo (PEPPA; URIBARRI; VLASSARA, 2003). Estas alterações atuam causando modificações estruturais a nível celular que são responsáveis, como consequência, pela progressão da doença, bem como pelos danos aos órgãos alvos e complicações associadas à diabetes tais como hipertensão, arteriosclerose, dislipidemias, retinopatia, neuropatia e nefropatia (SAISHO, 2014; ZEPHY; AHMAD, 2014).

Por outro lado, o exercício físico é uma importante ferramenta para a prevenção e o controle dos efeitos deletérios da diabetes. De fato, já está bem evidenciada a capacidade do treinamento em promover melhoria da sensibilidade à insulina e do perfil glicêmico (CHOI et al., 2012; SUH *et al.*, 2012). Além disso, alguns estudos mostram que o treinamento físico é capaz de aumentar a produção natural de agentes antioxidantes em indivíduos diabéticos (KRAUSE *et al.*, 2014; PITTALUGA et al., 2015; GORDON *et al.*, 2008; WYCHERLEY *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2010). No entanto, alguns estudos não encontraram nenhum efeito do treinamento físico sobre esses parâmetros, apesar de utilizar protocolos de exercício semelhantes (VENOJÄRVI *et al.*, 2013; KURBAN *et al.* 2011).

Os resultados dos estudos que avaliaram o efeito do exercício físico sobre parâmetros de estresse oxidativo não são consensuais. Tangvarisittichai (2015) afirma, a partir de uma revisão sistemática, que novos estudos avaliando o efeito do treinamento físico no estresse oxidativo de diabéticos são necessários, pois os estudos existentes são limitados em termos de quantidade e qualidade. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de um programa de treinamento aeróbio de 12 semanas sobre a peroxidação lipídica e a capacidade antioxidante total em indivíduos diabéticos tipo 2.



MÉTODOS

Sujeitos: O estudo foi desenvolvido com 13 voluntários diabéticos tipo 2 de ambos os sexos, 55 ± 5 anos de idade e IMC de 28 ± 4 que foram randomicamente alocados em grupo exercício (7 indivíduos) e grupo controle (6 indivíduos). Eles foram incluídos a partir dos seguintes critérios: ser clinicamente autorizado por um médico para realizar treinamentos físicos; ter idade entre 45 e 60 anos; ser diabético tipo 2 diagnosticado há no mínimo 12 meses; ter IMC entre 25 e 35 kg/m², ser previamente sedentário, segundo o IPAQ-versão curta (MATSUDO et al., 2001), estar em tratamento com hipoglicemiante oral, não fazer uso de insulina, não utilizar fármacos anti-inflamatórios sistêmicos e as mulheres já devem ter cessado seus ciclos menstruais. Foram excluídos os voluntários que, durante o estudo, alteraram sua terapia medicamentosa hipoglicemiante, iniciaram o uso de fármacos anti-inflamatórios, modificaram seus estilos de atividade física, assim como, aqueles que não realizaram pelo menos 70% das sessões de treinamento ou faltaram às sessões por duas semanas consecutivas.

Crítérios Éticos: O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPB, sob o protocolo: 0309/15. Todos os voluntários envolvidos na pesquisa foram informados acerca dos propósitos e solicitados a assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Desenho do estudo: os sujeitos foram submetidos, inicialmente, a um teste cardiorrespiratório e 48 horas após participaram de uma avaliação da composição corporal e coleta sanguínea para análise da glicemia de jejum e estresse oxidativo (malonaldeído e capacidade antioxidante total) (FIGURA 1). Quarenta e oito horas depois, os grupos iniciaram o período de intervenção de 12 semanas de treinamento aeróbio ou controle sedentário conforme mostrado na figura 1. A coleta sanguínea foi repetida no final do programa, 48 horas após a última sessão de treino.

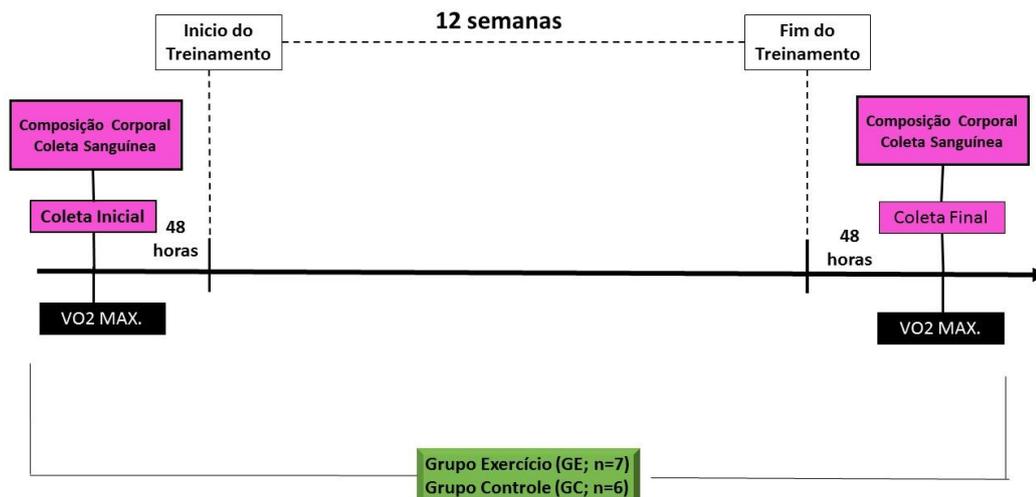


Figura 1: Desenho experimental do estudo

Composição corporal: As medidas de massa corporal e estatura foram realizadas utilizando uma balança digital Tanita- BF- 683W (Rio de Janeiro, Brasil), com precisão de 0,1 kg e estadiômetro portátil (Sanny, São Paulo, Brasil), com precisão de 1 cm. A medida de estatura foi realizada sem apneia respiratória. Os resultados dessas medidas foram utilizados para determinação do Índice de Massa Corporal (IMC), adotando o critério da Organização Mundial de Saúde (OMS, 1995).

Coletas sanguíneas: Foram coletados 10 mL de sangue venoso da veia antecubital, após jejum de 12 horas por um profissional capacitado. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante (soro ou plasma) transferido para microtubos e refrigerado a uma temperatura de -20°C a 4°C até as análises.

A glicemia de jejum foi determinada em amostras de soro através do método enzimático colorimétrico da glicose oxidase, seguindo as recomendações do fabricante, em um analisador automático Labmax 240 premium (Labtest, Minas Gerais, Brasil).

A atividade oxidante foi quantificada por meio da reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS) com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos. Para isso, 250 μl do plasma foram incubados em banho Maria a 37°C por 60 minutos. Em seguida, a amostra foi precipitada com ácido perclórico AA a 35% e centrifugada a 14000 rpm por 20 minutos à 4°C . O sobrenadante foi transferido para novos microtubos onde foi adicionado 400 μl de ácido tiobarbitúrico a 0,6% e incubado à 100°C por 60 minutos. Após resfriamento, o material foi lido em espectrofotômetro ultravioleta (Bioespectro, modelo SP-22, Brasil) a um



comprimento de onda de 532nm, em temperatura ambiente.

A atividade antioxidante foi quantificada através da capacidade antioxidante total pelo método do DPPH. O procedimento será baseado no método descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) na qual uma alíquota de 1,25 mg de DPPH é diluída em 100 mL de etanol, mantida sob refrigeração e protegida da luz (com papel alumínio ou vidro âmbar). Em tubos apropriados para centrífuga foram adicionados 3,9 mL da solução de DPPH e, em seguida acrescentados 100 µL do plasma. Os tubos foram agitados no vórtex e deixados em repouso por 30 minutos. Em seguida foram centrifugados a 10.000 rpm à temperatura de 20°C por 15 minutos e o sobrenadante utilizado para a realização da leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados foram expressos como atividade antioxidante (%), onde:

$$AOA = 100 - \frac{[DPPH \cdot R]_t}{[DPPH \cdot R]_B} \times 100$$

Sendo, $[DPPH \cdot R]_t$ e $[DPPH \cdot R]_B$ a concentração de DPPH• remanescente após 30 minutos, avaliada na amostra (t) e no branco (B) preparado com água destilada.

Protocolo de Treinamento: Os voluntários realizaram 12 semanas de um protocolo de treinamento aeróbio em esteira ergométrica (Moviment®, modelo LX160I, Brasil), com frequência de três sessões semanais. Inicialmente, os voluntários passaram por um período de adaptação na primeira semana de exercícios, onde foram realizadas três sessões de 20 minutos de exercício a 50% da frequência cardíaca máxima (FC_{máx}), calculada pela fórmula de Karvonen, Kentala, Mustala. (1957). A partir da segunda semana, o volume de treino aumentou para 30 minutos, a 60% da FC_{máx} e evoluiu para 60 minutos nas três semanas seguintes. A partir da quinta semana foi estabelecida uma duração de 60 minutos, que se manteve até o final do programa. Nessa fase a intensidade evoluiu para 70% - 75% da FC_{máx}. A intensidade de todas as sessões foi ajustada de acordo com a percepção subjetiva de esforço (PSE) dos voluntários, referida na escala de 6 a 20 proposta por Borg (BORG, 1982).

Análise estatística: os dados foram testados inicialmente quanto à normalidade e homogeneidade por meio dos testes de Shapiro Wilk e Levene, respectivamente. Posteriormente foram aplicados os testes de Wilcoxon e teste t pareado para avaliar o efeito do treinamento sobre as variáveis do estudo e os testes U de Man Whitney para comparar os grupos, conforme a normalidade dos dados. Para isso foi utilizado o *software SPSS Statistics* (v. 22, IBM SPSS, Chicago, IL).



RESULTADOS

As características dos sujeitos do estudo estão descritas na tabela 1. Ambos os grupos apresentaram características demográficas e marcadores bioquímicos estatisticamente similares.

Tabela 1. Caracterização demográfica da amostra

	Grupo Exercício (n=7)	Grupo Controle (n=6)
Idade (anos)	56±4	55±7
Sexo		
Homens	4	3
Mulheres	3	3
Tempo de DM2	5,4±0	9,3±7
Medicamentos para DM2 (quantidade)		
1	3	3
2	4	2
3		1
Glicemia (mg/dL)	167±45	196±50
MDA (µmol/L)	3,0±1	2,4±1
CAT (%)	26±10	30±10

Dados são média, desvio padrão da média e frequência. DM2- diabetes mellitus tipo 2, MDA- malondialdeído, CAT – capacidade antioxidante total



Os dados da tabela 2 mostram que o grupo treinado terminou o estudo com capacidade aeróbia significativamente maior do que o grupo controle, a qual foi 12% maior em relação aos seus valores iniciais, porém este aumento não foi estatisticamente significativo na análise intra grupo. Enquanto isso, não houve alterações na composição corporal em nenhum dos grupos.

Tabela 2. Efeito do treinamento na capacidade aeróbia e na composição corporal de diabéticos tipo 2

	Exercício (n=7)		Controle (n=6)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
VO2max (ml/kg.min)	23,3±4	26,5±3 [#]	21,8±4	21,2±4
PESO (kg)	85,0±30	85,7±29	70,6±7	70,3±7
IMC (kg/m ²)	30,0±5	30,3±5	27,1±2	27,0±2

Dados são média e desvio padrão da média. # diferença significativa em relação ao grupo controle, p=0.02, no teste t independente.

O treinamento promoveu uma redução significativa da peroxidação lipídica marcada pela atividade do malondialdeído. A capacidade antioxidante total e a glicemia não se modificaram com o treinamento, bem como não houve diferenças entre o grupo controle e exercício (FIGURA 2).

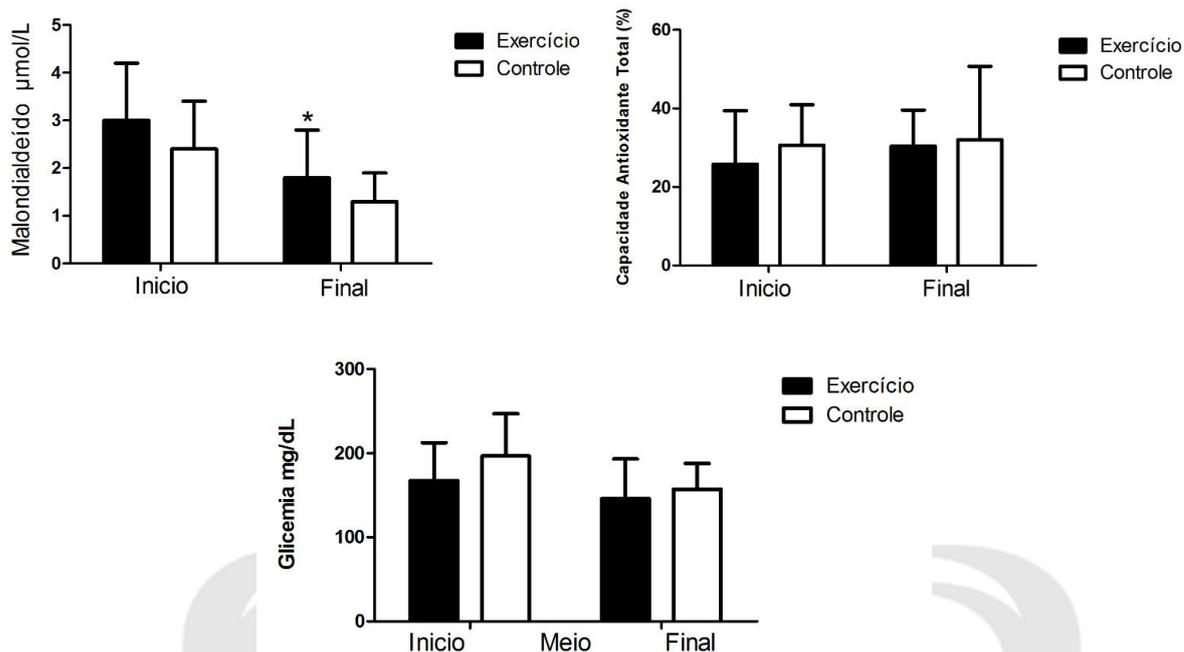


Figura 2. Efeito do programa de treinamento sobre o estresse oxidativo e glicemia em jejum de indivíduos diabéticos tipo 2. Dados são média e desvio padrão da média, *diferença significativa em relação aos valores iniciais, $p < 0.05$ no teste de Wilcoxon.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que o programa de treinamento adotado promoveu uma redução da peroxidação lipídica nos diabéticos participantes do estudo. No entanto, a capacidade antioxidante total e a glicemia não sofreram alterações.

O treinamento físico promoveu um aumento médio de 12% na capacidade aeróbia dos voluntários. Esse percentual de melhoria não foi significativo, mas ocorreu uma tendência para tê-lo ($p=0,07$) e está dentro do que outros estudos que envolvem treinamento aeróbio moderado de 12 semanas com de diabéticos tipo 2 da mesma faixa etária apresentam, nos quais indicaram melhorias significativas de 3% (KRAUSE, *et al* 2014), 10% (WYCHERLEY., *et al* 2008), 14% (BALDUCCI., *et al* 2010) e 16% (JORGE., *et al* 2011). Além disso, o grupo treinado terminou o estudo com capacidade aeróbia significativamente melhor do que o grupo controle. Este apanhado de informações indica que o treinamento foi benéfico para os voluntários. A falta de significância estatística para o VO_{2max} do grupo exercício na análise intra grupo foi fruto do tamanho amostral inicial do presente trabalho, que ainda está em andamento. Esta afirmação é baseada em teste *a posteriori*, que indicou *effect size* de 0,88 (considerado de moderado para forte), o qual indica a necessidade de um tamanho



amostral de 10 sujeitos por grupo para poder amostral de 80%.

Enquanto a grande maioria dos estudos indicam a capacidade de programas de treinamento aeróbio para reduzir a glicemia de jejum (AGGARWALLA., *et al* 2016; SLENTZ., *et al* 2016; SIMPSON., *et al* 2015; MOTAHARI-TABARI., *et al* 2014), inclusive com revisões (COLBERG., *et al* 2016; AGUIAR., *et al* 2014) e meta análises (JELLEYMAN., *et al* 2015; SCHWINGSHACK., *et al* 2014), atentando para este efeito, no presente estudo, ocorreu redução descritiva da glicemia, mas sem diferenças estatísticas entre os valores pré e pós treinamento. Assim como para a capacidade aeróbia, a explicação para a ausência da diferença estatística é o tamanho amostral atual deste estudo que ainda está em andamento. O teste *a posteriori*, revelou *effect size* de 0,46, que por sua vez indica um tamanho amostral de 31 sujeitos para que o efeito glicêmico do treinamento seja significativo.

O mais interessante achado deste estudo foi que uma redução da peroxidação lipídica já foi obtida antes mesmo da redução na glicemia ter sido observada. Vários estudos prévios já haviam indicado melhora nesta mesma variável (PITTALUGA, *et al* 2015; GORDON, *et al* 2008; WYCHERLEY, *et al* 2008), mas em nenhum deles, esse fenômeno ocorreu independentemente da redução na glicemia. A importante implicação prática destes dados é o fato de que o principal mediador dos danos aos órgãos alvo no diabetes é precisamente o estresse oxidativo (SAISHO, 2014). Deste modo, este estudo mostra a importância do treinamento físico para prevenir a evolução do diabetes para as enfermidades resultantes dos danos aos órgãos alvo.

Enquanto isso, a capacidade antioxidante total não se modificou com o treinamento. Isto pode indicar que a redução da peroxidação lipídica não foi resultado da ação de agentes antioxidantes, no qual é o principal mecanismo responsável pela degradação das espécies reativas de oxigênio (JI. *et al*, 2002). Do mesmo modo, alguns estudos também não encontraram alterações no status antioxidante com o treinamento (VENOJÄRVI *et al.*, 2013; CHEN., *et al* 2015; KRUBAN., *et al* 2011; LUCCOTI., *et al* 2011). Mas a falta de resultados no presente estudo é explicada pelo tamanho amostral do estudo em andamento, uma vez que um cálculo amostral *a posteriori* indicou um *effect size* de 0,51, mostrando que uma amostra de 24 voluntários é necessária para que seja encontrado algum efeito do treinamento na capacidade antioxidante total. Nessa perspectiva, uma vez concluído esse trabalho com a amostra total estimada, espera-se que haja um aumento significativo da capacidade antioxidante total, indicando a participação de agentes antioxidantes no combate ao estresse



oxidativo.

CONCLUSÃO

Doze semanas de exercício aeróbio moderado promove redução do estresse oxidativo, independente de redução da glicemia em diabeticos tipo 2.

REFERÊNCIAS

AGGARWALLA, *et al.* Effects of aerobic exercise on blood glucose levels and lipid profile in Diabetes Mellitus type 2. **US National Library of Medicine Enlisted Journal**. v. 9 p. 65-69. 2016.

AGUIAR, *et al.* Efficacy of interventions that include diet, aerobic and resistance training components for type 2 diabetes prevention: a systematic review with meta-analysis. **International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity**. V. 11, p. 2. 2014.

BALDUCCI, S. *et al.* Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease**, v. 20, p.608-617, 2010.

BORG, G. A. V. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 14, No. 5, pp. 337-381. 1982.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995

CHEN, *et al.* Effect of T'ai Chi Exercise on Biochemical Profiles and Oxidative Stress Indicators in Obese Patients with Type 2 Diabetes. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**. v. 16. Nº 11, pp 1153-1159. 2010.

CHEN, *et al.* Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance. **International Journal of Endocrinology**. v. 15. 2015. 508-409.

CHOI, K.M. *et al.* Effects of Exercise on sRAGE Levels and Cardiometabolic Risk Factors in Patients with Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. **Endocrine Research**, v.97, n.10, p.3751-3758, 2012.

COLBERG, *et al.* Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. **Diabetes Care**. v. 39, pp. 2065-2080. 2016.

GORDON, L.A. *et al.* Effect of exercise therapy on lipid profile and oxidative stress indicators in patients with type 2 diabetes. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.8, n.21, p.1-10. 2008.

JELLEYMAN. *et al.* The effects of hi intensity interval training on glucose regulation and



insulin resistance: a meta-analysis. **Word Obesity**. v. 16, p. 942-961. 2015.

JL, L. Exercise-induced Modulation of Antioxidant Defense. **New York Academy of Sciences** v. 959, p. 82–92. 2002.

JORGE. *et al.* The effects of aerobic, resistance and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism Clinical and Experimental**. v. 60, p 1244-1252. 2011.

KRAUSE, M. *et al.* The effects of aerobic exercise training at two different intensities in obesity and type 2 diabetes: implications for oxidative stress, low-grade inflammation and nitric oxide production. **European Journal of Applied Physiology**, v.114, n.2, p.251-260. 2014.

KARVONEN, M.J.; KENTALA, E.; MUSTALA, O. The effects of training on heart rate; a longitudinal study. **Ann Med Exp Biol Fenn**, v.35, n.3, p.307-315, 1957.

KURBAN, *et al.* Effect of chronic regular exercise on serum ischemia- modified albumin levels and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. **Endocrine Research**. v. 36. N. 3, p. 116-123. 2011.

LUCCOTI, *et al.* Aerobic and resistance training effects compared to aerobic training alone in obese type 2 diabetic patients on diet treatment. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v. 94, p. 395-403, 2011.

MATSUDO, V.K *et al.* Questionario internacional de atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, v.6, n.2, p.5-18, 2001.

MOTAHARI-TABARI, et al. The Effect of 8 Weeks Aerobic Exercise on Insulin Resistance in Type 2 Diabetes: A Randomized Clinical Trial. **Global Journal of Health Science**. v. 7, N. 1. 2015

OLIVEIRA, *et al.* The effect of different training programs on antioxidant status, oxidative stress, and metabolic control in type 2 diabetes. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.** v. 37. Pp. 334-344. 2012.

PEPPA, M.; URIBARRI, J.; VLASSARA, H. Glucose, advanced glycation end products, and diabetes complications: what is new and what works. **Clinical Diabetes**, v. 21, n.4, p.186-187, 2003.

PITTALUGA, M. *et al* Physical Exercise and Redox Balance in Type 2 Diabetics: Effects of Moderate Training on Biomarkers of Oxidative Stress and DNA Damage Evaluated through Comet Assay. **Oxidative Medicine and Cellular Corporation Longevity**, p.1-7, 2015.

SAISHO Y. Glycemic variability and oxidative stress: a link between diabetes and cardiovascular disease?. **International Journal of Molecular Science**, v.15, p.18381-18406, 2014.



SCHWINGSHACK, L. *et al.* Impact of different training modalities on glycaemic control and blood lipids in patients with type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg**. n. 57, p. 1789-1797. 2014

SIMPSON, et al. Graded Resistance Exercise And Type 2 Diabetes in Older adults. p. 2-14 2015

SLENTZ, *et al.* Effects of exercise training alone vs a combined exercise and nutritional lifestyle intervention on glucose homeostasis in prediabetic individuals: a randomised controlled trial. **Diabetologia**. v. 59, p. 2088-2098. 2016.

SUH, *et al.* Effects of Resistance Training and Aerobic Exercise on Insulin Sensitivity in Overweight Korean Adolescents: A Controlled Randomized Trial. **Diabetes & Metabolism Journal**. Vol. 35, p. 418-426. 2011.

TANGVARASITTICHAJ, S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. **Word Journal of Diabetes**. v.6, n.3, p.456-480, 2015.

VENOJÄRVI, M. *et al.* 12 weeks' aerobic and resistance training without dietary intervention did not influence oxidative stress but aerobic training decreased atherogenic index in middle-aged men with impaired glucose regulation. **Food and Chemical Toxicology**, v. 61, n, 11, p. 127-135, 2013.

WYCHERLEY, T.P. *et al.* Effect of caloric restriction with and without exercise training on oxidative stress and endothelial function in obese subjects with type 2 diabetes. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v.10, p. 1062-1073, 2008.

ZEPHY, D.; AHMAD, J. Type 2 diabetes mellitus: Role of melatonin and oxidative stress. **Clinical Research e Reviews**, v. 9, n. 2, p. 127-131, 2015.