



## **Efeitos do treinamento resistido sobre marcadores de estresse oxidativo, $\text{no}_2^-$ e pressão arterial em diabéticos tipo 2: um ensaio clínico randomizado**

**Letícia Suzane Martins Texeira (IC) Marcelo Magalhães Sales (PQ)**  
**leticiasuzanne@gmail.com**

Universidade Estadual de Goiás. Departamento de Educação Física. Avenida Brasil, 435 - Conjunto Hélio Leão II, Quirinópolis - Goiás, Brazil, CEP: 75860-000.

Diabetes Mellitus é uma doença crônica degenerativa não transmissível que atinge por volta de 415 milhões de pessoas em todo o mundo, e quase 15 milhões somente no Brasil, sendo o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) o mais prevalente, representando aproximadamente 90-95% de todos os casos. Entre as possíveis causas de DM2, as mais comuns estão relacionadas ao estilo de vida, que envolvem uma má alimentação, tabagismo, obesidade, estresse diário, alcoolismo e sedentarismo que por sua vez, favorece o acúmulo de gordura intramuscular, favorecendo um aumento do estresse oxidativo (EO) e, por conseguinte, facilitando o aparecimento de diversos distúrbios metabólicos, bem como alterações macro e microvasculares associados ao DM2, como a hipertensão arterial sistêmica (HAS). Por outro lado, uma recente e elegante revisão, aponta o exercício físico, especialmente o de natureza aeróbia, como uma importante ferramenta para a redução do EO. No entanto, pouco se conhece a respeito dos efeitos do treinamento resistido (TR) sobre marcadores de EO, óxido nítrico (ON) e pressão arterial (PA) sobretudo em DM2. Assim, o objetivo verificar e comparar os efeitos do treinamento resistido sobre marcadores do EO, ON e PA em DM2 e não diabéticos.

Palavras-chave: Radicais livre. Endotélio vascular. Exercício físico.

### **Introdução**

O diabetes mellitus é uma doença crônica degenerativa não transmissível que atinge por volta de 415 milhões de pessoas em todo o mundo, e quase 15 milhões somente no Brasil, sendo o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) o mais prevalente,

#### **REALIZAÇÃO**



representando aproximadamente 90-95% de todos os casos. O Brasil é o 4º país do mundo com o maior número de casos da patologia em questão (International Diabetes Federation, 2013). Entre as possíveis causas de DM2, as mais comuns estão relacionadas ao estilo de vida do homem moderno, que envolvem uma má alimentação, tabagismo, obesidade, estresse diário, alcoolismo e sedentarismo (Chan et al, 1994). O resultado de um estilo de vida que engloba os fatores mencionados acima favorece o acúmulo de gordura intramuscular, que por sua vez aumenta a formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON), ocasionando um quadro de estresse oxidativo (EO) e, por conseguinte, facilitando o aparecimento de diversos distúrbios metabólicos bem como macro e microvasculares associados ao DM2, como a hipertensão arterial sistêmica (HAS) (American Diabetes Association, 2010). Por outro lado, uma recente e elegante revisão, aponta o exercício físico, especialmente o de natureza aeróbia, como uma importante ferramenta para a redução do EO, na medida em que, pode limitar consideravelmente a produção de marcadores de EO em humanos saudáveis ou diabéticos (Venkatasamy et al, 2013). No entanto, pouco se conhece a respeito dos efeitos do treinamento resistido (TR) sobre marcadores de EO, ON e PA em DM2 (Oliveira et al., 2013). Com isso, o objetivo do presente estudo foi verificar e comparar os efeitos do TR sobre marcadores de EO, ON e PA em DM 2 e não diabéticos.

## Material e Métodos

Os níveis de hemoglobina glicada (HbA1c) foram determinados usando o método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) Utilizando-se de kits disponíveis comercialmente (Chromsystems Instruments and Chemicals GmbH, München, Alemanha). O ácido úrico foi utilizado como parâmetro para marcador antioxidante, sendo medido espectrofotometricamente no analisador bioquímico SP-22 (Espectrofotômetro Digital, SP-22, Biospectro) usando kits para método enzimático colorimétrico (Labtest®, MG, Brasil). A PA foi mensurada a cada quatro semanas, em repouso, imediatamente após a sessão de treinamento. Como marcador fisiológico da DE, foi utilizado um dos metabólitos do óxido nítrico, o nitrito,



e, para sua determinação, 100µL e 50µL de PBS foram colocados nos poços da curva padrão e poços para amostra, respectivamente em placas de 96 poços. Em seguida, acrescentou-se 100µL de solução estoque de  $\text{NaNO}_2$  a 100µM, previamente diluídos 1:200 nos primeiros poços da curva padrão, posteriormente diluições sucessivas de 1:2, nos poços seguintes para determinar a curva padrão de nitrito. Nos poços para amostra foram colocados 50 µL da amostra de plasma e adicionados 100 µL de uma mistura de sulfanilida a 1%, em ácido fosfórico 2,5%, e naftiletilenodiamida 1%, em ácido fosfórico 2,5%, na proporção de 1:1. Após 10 minutos de incubação à temperatura ambiente, realizou-se a leitura de ELISA a 540 nm. A quantidade de nitrito de cada amostra foi calculada, utilizando a fórmula de regressão linear da absorbância pela quantidade de nitrito conhecida da padrão de nitrito de sódio (200µM a 0,097µM). Para a realização da mensuração de Thiobarbituric Acid-Reactive Substances (TBARS) o soro da amostra foi separado e diluído em 20% em água miliQ e preparado os reagentes: TCA 17,5 %, TCA 70% e TBA 0,6%. Posteriormente, adicionou-se à amostra, em superfície fria, 200ul de TCA 17,5% e 200ul de TBA 0,6%, homogeneizando em vórtex por 15 minutos e em seguida incubando em banho fervente a 95°C por vinte minutos para que ocorresse a reação. Após o tempo determinado, 200ul de TCA 70% foram adicionados para que encerrasse a reação, nova homogeneização no vórtex por 20 minutos, isolados da luz, e em seguida centrifugando por vinte minutos a 3000 rpm. Para determinação da absorbância a 534nm utilizou-se o equipamento Biotek Elx 800, calculando o nível de reação. A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram expressos em média, desvio padrão. Split-plot ANOVA com o Post Hoc de Bonferroni foi empregada para a comparação entre e intra-grupos. A esfericidade dos dados foi testada por meio do teste de Mauchly e, caso o teste estivesse violado, utilizou-se o épsilon de Green-House Geisser, para a estatística FO tamanho do efeito das comparações foi realizado pelo Eta Square. Adotou-se o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Todos os procedimentos foram realizados por meio do software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 21.0.

## Resultados e Discussão

Os níveis de TBARS do grupo NDAEXP foi estatisticamente menor ( $p < 0,05$ ) em repouso e após 4 semanas em relação ao grupo DM2CONT. Após 8 semanas nenhum grupo apresentou diferença significativa. No grupo DM2EXP houve uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) após 8 semanas de treinamento quando comparado aos níveis de 4 semanas. No grupo NDAEXP, houve uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) a partir de 4 semanas de treinamento quando comparado aos níveis de pré-treino, e mantendo os valores em 8 semanas. Os níveis de ácido úrico dos grupos DM2EXP e NDAEXP foram significativamente menores ( $p < 0,05$ ) no pré-treino e após 4 semanas, quando comparado com os grupos DM2CONT e NDACONT, entretanto, somente o grupo NDAEXP apresentou níveis significativamente menores ( $p < 0,05$ ) em relação aos controles após 8 semanas. Os grupos DM2EXP, NDAEXP e NDACONT apresentaram níveis de ácido úrico significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) após 8 semanas, quando comparado aos dois momentos anteriores, porém, no grupo DM2CONT, o nível de ácido úrico foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) após 8 semanas, quando comparado com 4 semanas, entretanto, não houve diferença significativa de 8 semanas quando comparado ao pré treino. Em relação à análise de mudança absoluta de NO e PA, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, os grupos de treinamento demonstraram uma redução das concentrações de NO, enquanto que os grupos de controle apresentaram um ligeiro aumento ou manutenção. No entanto, essas mudanças não foram significativas. No que diz respeito à alteração absoluta da PA, semelhante aos resultados de NO, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. No entanto, os grupos de treinamento apresentaram diminuição da PA, enquanto os grupos de controle tiveram um pequeno aumento ou manutenção. No entanto, essas alterações não foram significativas (Figura 1A-D).

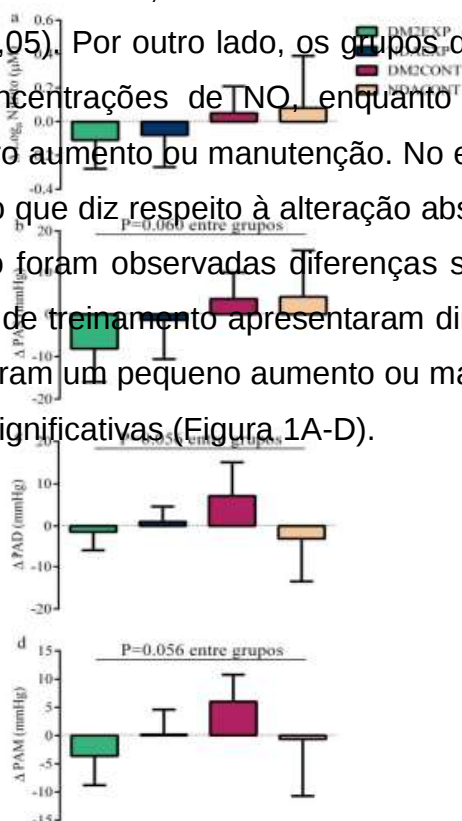




Figura 1. Alteração absoluta de nitrito, pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM) após 8 semanas de treinamento.

### Considerações Finais

Em conclusão, o treinamento de força é um tratamento não farmacológico para a prevenção de aumento de PA, porém, o nível de NO não aumentou durante as 8 semanas. Em relação aos marcadores de estresse oxidativo, após 8 semanas de treinamento, os níveis de ácido úrico e TBARS dos diabéticos se tornam semelhantes aos indivíduos saudáveis, mostrando assim a eficiência do exercício físico na manutenção da saúde de um indivíduo com DM2..

### Agradecimentos

Os autores agradecem o recebimento de bolsas de estudo para alunos de graduação (PIBIC/CNPq).

### Referências

1. Aguirre F, Brown A, Cho N, Dahlquist G. IDF Diabetes Atlas. 6th ed. 2013.
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2008;33(1):62–9.



3. Cohen R a, Tong X. Vascular oxidative stress: the common link in hypertensive and diabetic vascular disease. J Cardiovasc Pharmacol. 2010;55(4):308–16.
4. Venkatasamy VV, Pericherla S, Manthuruthil S, Mishra S, Hanno R. Effect of Physical activity on Insulin Resistance, Inflammation and Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. J Clin Diagn Res. 2013;7(8):1764–6.
5. Oliveira V, Bessa A. The effect of different training programs on antioxidant status, oxidative stress, and metabolic control in type 2 diabetes. Appl Physiol Nutr Metab. 2012;344:334–44.
6. Samjoo I, Safdar A, Hamadeh M, Raha S, Tarnopolsky M. The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. Nutrition & diabetes. 2013;3(9):e88.