



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Nutrição

Mário Vilá Pitaluga Filho

**Influência da condição física sobre indicadores bioquímicos de
lesão muscular, hepática e da capacidade antioxidante após
treinamento militar intenso**

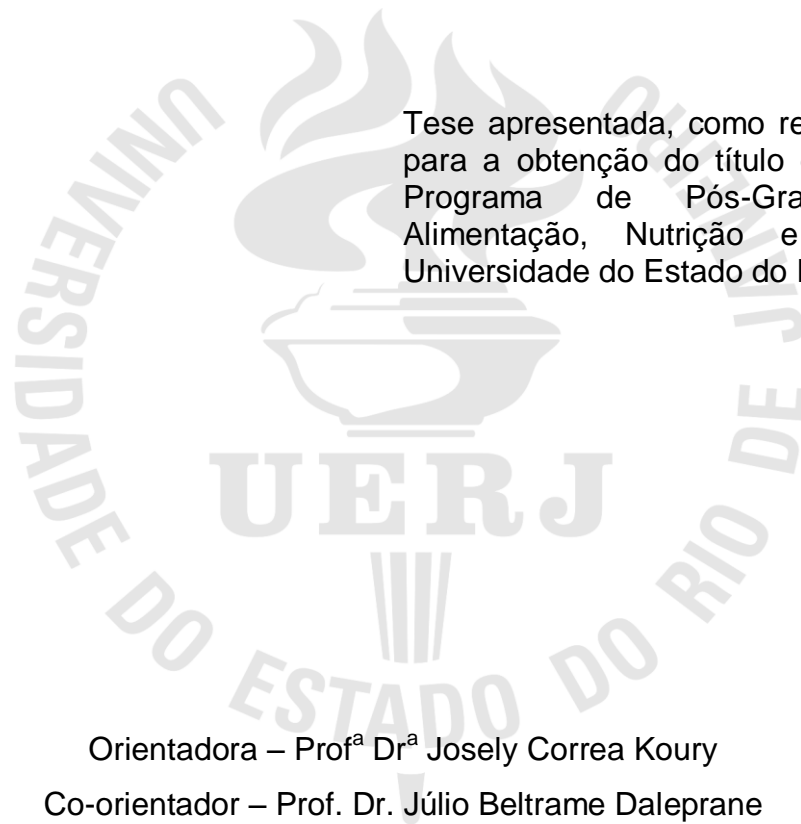
Rio de Janeiro

2014

Mário Vilá Pitaluga Filho

Influência da condição física sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular, hepática e da capacidade antioxidante após treinamento militar intenso

Tese apresentada, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro



Orientadora – Prof^a Dr^a Josely Correa Koury

Co-orientador – Prof. Dr. Júlio Beltrame Daleprane

Rio de Janeiro

2014

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CEH/A

P681 Pitaluga Filho, Mário Vilá.
Influência da condição física sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular, hepática e da capacidade antioxidante após treinamento militar intenso / Mário Vilá Pitaluga Filho. – 2014.
60 f.

Orientadora: Josely Correa Koury
Co-orientador: Júlio Beltrame Daleprane
Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Instituto de Nutrição

1. Nutrição – Teses. 2. Ferimentos e Lesões – Teses. 3. Educação Física e Treinamento – Teses. 4. Militarismo – Teses. I. Koury, Josely Correa. II. Daleprane, Júlio Beltrame. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Nutrição. III. Título.

es

CDU 612.39::796

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Mário Vilá Pitaluga Filho

Influência da condição física sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular, hepática e da capacidade antioxidante após treinamento militar intenso

Tese apresentada, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 31 de outubro de 2014.

Banca Examinadora:

Prof^a Dr^a Josely Correa Koury (Orientadora)
Instituto de Nutrição – UERJ

Prof Dr Marcos de Sá Rego Fortes
Instituto de Pesquisa da Capacitação Física do Exército

Prof Dr Antônio Fernando Araújo Duarte
Instituto de Pesquisa da Capacitação Física do Exército

Profa Dra Flávia Fioruci Bezerra
Instituto de Nutrição – UERJ

Profa Dra Marta Citelli dos Reis
Instituto de Nutrição - UERJ

Rio de Janeiro

2014

DEDICATÓRIA

A meus pais, Mário Vilá Pitaluga e Maria Thereza Martins Pitaluga (*in memoriam*), a quem devo minha vida e meu caráter, que me ensinaram as prioridades na vida, incentivaram a minha educação e sempre confiaram em minha capacidade.

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Lívia, companheira de todas as horas, fonte de inspiração e renovação, que sempre me incentivou em meus momentos de desânimo e falta de estímulo;

A meus filhos, Gustavo, João Pedro e Antônio, que iluminam o meu viver e são motivo de entusiasmo e de orgulho;

Ao Exército Brasileiro, minha segunda casa, que reforçou os ensinamentos de cultivar a verdade, a lealdade e a probidade, e que me permitiu cursar o Doutorado com afastamento parcial do serviço;

Aos meus amigos do IPCFEx, cujo valioso apoio teve participação fundamental em todas as fases deste trabalho.

Aos meus amigos do Doutorado/ Mestrado, pelo carinho, conforto e amizade e pelo incentivo e colaboração nas análises e nas reflexões críticas,

Ao Programa de Pós-graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da UERJ, pela confiança e oportunidade acadêmica;

A Prof^a Josely Correa Koury, minha orientadora, pela oportunidade de convivência durante o Curso, pelo exemplo profissional e rigor na condução do método científico e pelos inúmeros ensinamentos acadêmicos, fundamentais para a minha formação como pesquisador;

A Prof^a Flávia Fiorucci, pelos ensinamentos e contribuições ao trabalho e pelo apoio e compreensão durante todo Curso de Doutorado.

RESUMO

PITALUGA FILHO, Mário Vilá. *Influência da condição física sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular e da capacidade antioxidante após treinamento militar intenso*. 2014. 60 f. Tese (Doutorado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

A atividade física regular está associada com inúmeros benefícios para a saúde. Entretanto, se excessiva, pode levar a ocorrência de lesões e ao aumento da produção de radicais livres e de espécies reativas. Se essa produção superar as defesas antioxidantes, podem ocorrer danos nas membranas celulares. Porém, o melhor condicionamento físico pode aumentar as defesas antioxidantes e reduzir os riscos de lesão muscular. O objetivo deste estudo foi investigar a influência do condicionamento físico sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular e da capacidade antioxidante em militares fisicamente treinados. Doze dias antes de um treinamento militar intenso, com duração de três dias, 71 cadetes realizaram uma avaliação da condição aeróbia (teste de 12 min) e da potência de membros inferiores. Baseando-se nesses testes, os cadetes foram classificados em: Bom (B), Excelente (E) e Superior (S). Antes do início do treinamento (T1) e 24 horas depois (T2), foi estimado o dano muscular, pela concentração sérica de CK MM e LDH, e a capacidade antioxidante, pelo método do DPPH. Para análise estatística foi realizada a ANOVA 3 x 2. Quando estratificados pela potência aeróbia, verificou-se um aumento da CK e da LDH, entre T1 e T2, apenas nos grupos B (2105%; $p=0,03$) e E (1469%; $p<0,001$). Além disso, em T2, a concentração de LDH foi significativamente maior no grupo B que no S ($p=0,004$). Na análise do DPPH, tanto ao se estratificar pela potência aeróbia como pela muscular, o grupo S apresentou maior percentual de sequestro de radicais do que os demais (128,0%, $p<0,0001$; 121,5%, $p<0,03$, respectivamente). Os resultados sugerem que o aumento na concentração dos marcadores de lesão muscular é menos consistente nos grupos de melhor condicionamento físico e que o aumento na capacidade antioxidante é mais consistente nos grupos de melhor condicionamento físico.

Palavras Chave: Condição Física. Lesão Muscular. Exercício. Marcadores Bioquímicos. Capacidade Antioxidante. Treinamento Militar.

ABSTRACT

PITALUGA FILHO, Mário Vilá. *The influence of physical fitness on biochemical markers of muscle damage and antioxidant capacity after intense military training*. 2014. 60 f. Tese (Doutorado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

The regular physical activity is associated with several health benefits. However, if excessive, can lead to the occurrence of injuries and increased production of free radicals and reactive species. If this production exceeds antioxidant defenses, cell membranes can be damaged. However, the improvement in physical fitness can increase the antioxidant defenses and reduce the risk of muscle injury. The aim of this study was to investigate the influence of physical fitness on biochemical markers of muscle damage and antioxidant capacity in physically trained military. Total of 71 cadets took part in the study. Twelve days before performing three days of intense military training, an assessment of aerobic fitness (12 min test) and the lower limb muscle power was performed. Based on these tests, the cadets were classified as: Good (G), Excellent (E) and Superior (S). Before training (T1) and 24 hours later (T2), muscle damage was estimated by determination of serum LDH and CK MM, and the antioxidant capacity by the DPPH method. ANOVA 3 x 2 statistical analyze was performed. When stratified by aerobic power, there was a significant increase in CK and LDH, between T1 and T2, only in groups G (2105%, $p = 0.03$) and E (1469%, $p < 0.001$). Also, at T2 the concentration of LDH was significantly higher in group G than in S ($P = 0.004$). In the DPPH analysis, stratifying by both aerobic power such as lower limb muscle power, the group S had a higher percentage of DPPH radical scavenging than the others (128.0%, $p < 0.0001$; 121.5%, $p < 0.03$, respectively). The results suggest that an increased concentration of muscle damage markers is less consistent in the groups with greater physical fitness and the increase in antioxidant capacity is more consistent in groups with greater fitness.

Key words: Physical Fitness. Biochemical Markers. Exercise. Muscle Damage. Antioxidant Capacity. Military Training.

SUMÁRIO

	APRESENTAÇÃO	9
1	INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO FÍSICA SOBRE INDICADORES BIOQUÍMICOS DE LESÃO MUSCULAR E DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE APÓS TREINAMENTO MILITAR INTENSO	10
1.1	Introdução	10
1.2	Revisão de literatura	11
1.2.1	<u>Exercício Físico</u>	11
1.2.1.1	Benefícios da prática da atividade física para a saúde	11
1.2.1.2	Treinamento Militar e Saúde	12
1.2.2	<u>Exercício Físico e Lesão Muscular</u>	13
1.2.2.1	Mecanismo da Lesão Muscular	15
1.3	Exercício Físico e Estresse Oxidativo	20
1.3.1	<u>Formação de Radicais Livres</u>	20
1.4	Objetivo	23
1.5	Hipótese	23
1.6	Metodologia	24
1.6.1	<u>Amostra</u>	24
1.6.2	<u>Delineamento Experimental</u>	24
1.6.2.1	Avaliação do condicionamento físico	25
1.6.2.2	Avaliação antropométrica	26
1.6.2.3	Consumo alimentar.....	26
1.6.2.4	Coleta de sangue.....	26
1.6.2.5	Indicadores do dano muscular.....	27
1.6.2.6	Capacidade antioxidante	27
1.6.2.7	Tratamento Estatístico	28
1.7	Resultados	28
1.8	Discussão	33
1.9	Conclusão	36
2	A CONDIÇÃO AERÓBIA PODE PROTEGER CONTRA LESÕES HEPÁTICAS E MUSCULARES CAUSADAS POR TREINAMENTO MILITAR DE CURTA DURAÇÃO	38

2.1	Introdução	39
2.2	Metodologia	39
2.2.1	<u>Participantes</u>	39
2.2.2	<u>Delineamento Experimental</u>	40
2.2.3	<u>Avaliação do condicionamento Físico</u>	41
2.2.4	<u>Avaliação antropométrica</u>	41
2.2.5	<u>Consumo alimentar</u>	41
2.2.6	<u>Coleta de sangue</u>	42
2.2.7	<u>Indicadores bioquímicos de dano muscular e hepático</u>	42
2.2.8	<u>Avaliação da desidratação</u>	42
2.2.9	<u>Tratamento Estatístico</u>	43
2.3	Resultados	43
2.4	Discussão	46
2.5	Conclusão	48
	REFERÊNCIAS	49
	ANEXO A – Sequência das atividades	61
	ANEXO B - Instrumentos utilizados	62

APRESENTAÇÃO

A presente Tese é composta por dois trabalhos; o primeiro investiga a influência do condicionamento físico sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular e de capacidade antioxidante após treinamento militar de alta intensidade; e o segundo, investiga a influência do condicionamento físico sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular e de lesão hepática, também após treinamento militar intenso.

Apesar dos dois trabalhos terem investigado os processos fisiológicos acarretados pelo mesmo exercício militar, as coletas de sangue para análise dos marcadores de lesão muscular e hepática ocorreram em momentos distintos e utilizando metodologias e equipamentos diferentes para a análise bioquímica do sangue.

O primeiro trabalho, intitulado **“Influência da condição física sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular e da capacidade antioxidante após treinamento militar intenso”** partiu do pressuposto que três dias de atividade militar intensa e ininterrupta levam a ocorrência de microlesões musculares, para, então, analisar o comportamento da capacidade antioxidante e de enzimas marcadoras de lesão muscular antes e após essa atividade, apresentando como inovação a análise da influência do condicionamento físico sobre o comportamento desses parâmetros.

O segundo, intitulado **“A condição aeróbia pode proteger contra lesões hepáticas e musculares causadas por treinamento militar de curta duração”**, foi submetido e publicado no **“Journal of Strength & Conditioning Research”**: **February 2016 - Volume 30 - Issue 2 - p 454–460**. O Estudo buscou verificar se o exercício militar de alta intensidade poderia provocar a ocorrência não só de lesões musculares, mas, também, de lesões hepáticas e relacionar essa ocorrência com o condicionamento aeróbio.

Os dois trabalhos foram desenvolvidos em parceria do Instituto de Nutrição da UERJ com o Instituto de Pesquisa da Capacitação Física do Exército.

1 INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO FÍSICA SOBRE INDICADORES BIOQUÍMICOS DE LESÃO MUSCULAR E DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE APÓS TREINAMENTO MILITAR INTENSO

1.1 Introdução

A atividade física regular e a prática de exercícios estão associadas com inúmeros benefícios para a saúde, tanto física como mental, levando a redução da taxa de mortalidade e diminuindo o risco de inúmeras doenças (Garber, 2011). O treinamento militar se caracteriza pela prática de atividades físicas que demandam elevado gasto energético, aliado à grande estresse físico, psicológico, ambiental e nutricional (Nindl, 2013). Para suportar o enorme desafio fisiológico decorrente desse treinamento, os militares precisam estar bem condicionados fisicamente, particularmente nos componentes aeróbio e de força muscular (Nindl, 2013, Knapik, 2004, Williams, 2004).

Entretanto, a atividade física, quando excessiva, pode ser prejudicial, levando a ocorrência de lesões (Bullock, 2010). Isso ocorre particularmente quando o exercício é realizado com contrações excêntricas repetitivas (Skenderi, 2006) e sem intervalos suficientes para a recuperação (Mayhew, 2005). A prática de exercícios intensos e prolongados pode resultar na desestruturação de componentes musculares e na ruptura da membrana celular, levando ao efluxo de proteínas intracelulares, entre as quais a creatina quinase (CK) e a lactato desidrogenase, (LDH) (Brancaccio, 2008, Clarkson, 2006). Assim, o aumento da concentração sérica dessas enzimas é utilizado como indicador de dano na membrana da fibra muscular (Skenderi, 2006).

Além das consequências dos traumas mecânicos, o exercício físico intenso causa importantes alterações metabólicas como o aumento da produção de radicais livres e de espécies reativas. Embora essas espécies tenham um papel essencial na adaptação muscular, o desequilíbrio entre a sua produção e a defesa antioxidante pode levar a efeitos prejudiciais ao organismo e a ocorrência de danos nas membranas celulares (Gomes, 2012, Powers, 2008).

Logo, a intensidade e a duração dos exercícios podem ter caráter benéfico ou prejudicial à saúde, causando consequências a médio ou longo prazo. Por isso, investigar a influência do condicionamento físico sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular e de capacidade antioxidante, pode esclarecer se o militar com melhor condicionamento físico tem maior proteção à lesão e melhor capacidade antioxidante.

1.2 Revisão de literatura

1.2.1 Exercício Físico

1.2.1.1 Benefícios da prática da atividade física para a saúde

Os efeitos benéficos do exercício físico vêm sendo evidenciados nas últimas décadas (Banfi, 2012, Kruk, 2009, Kemi, 2010). Estudos observacionais prospectivos demonstram que a prática regular de exercícios promove alterações positivas nos sistemas cardiovascular, musculoesquelético e neuro-humoral, relacionando de forma inversa a atividade física com diversas doenças (Prasad, 2009, Haskell, 2007). Os benefícios para a saúde são adquiridos pela adaptação do indivíduo ao treinamento, que nada mais é do que a habilidade do corpo humano de responder a estímulos, alterando sua estrutura e/ou função para, no futuro, realizar a mesma atividade de forma mais eficiente. Essa adaptação é mediada por uma extensa alteração metabólica e molecular do músculo esquelético (Egan, 2013), que ocorre em resposta ao estresse mecânico e metabólico induzido pelo exercício físico, envolvendo vários subsistemas e interações complexas nos tecidos musculoesqueléticos, de forma a proporcionar uma sinalização sustentável e adaptações estruturais que permitam a manutenção e/ou a melhora no desempenho físico (Suhr, 2013).

As evidências dessa relação entre a prática de exercícios e saúde são tão consistentes que os esforços de pesquisas recentes estão mais centrados em determinar a natureza da relação entre a atividade física e saúde do que avaliar se tal relação existe (Haskell, 2007). As atividades físicas vigorosas promovem um melhor condicionamento aeróbio, podendo proporcionar maior efeito cardioprotetor do que as atividades moderadas (Sattelmair, 2011, Haskell, 2007, Swain, 2006). Além disso, tem sido documentado que exercícios aeróbios intervalados de alta intensidade têm efeitos positivos superiores e trazem maiores benefícios para a saúde do que exercícios moderados, tanto para pessoas saudáveis quanto para doentes com síndrome metabólica, doença arterial coronariana ou insuficiência cardíaca (Nytrøen, 2013, Arena, 2013, Wisløff, 2007, Rognmo, 2004). Nesse sentido, os “guidelines” de atividade física do Departamento de Saúde dos EUA recomendam, para que sejam obtidos ganhos para a saúde, que seja realizado pelo menos 150 minutos por semana de atividade física aeróbia moderada / vigorosa, numa relação de 2 minutos de atividade moderada para 1 minuto de vigorosa. Afirma, ainda, que para ganhos adicionais, devem ser realizados mais do que 300 minutos por semana de atividade física. Por outro lado, pode ocorrer o aumento do risco de lesões musculares com a maior carga de treinamento, já que exercícios contínuos intensos, treinamentos extenuantes e competições podem induzir a danos tissulares (Banfi, 2012, Bullock, 2010).

1.2.1.2 Treinamento Militar e Saúde

O treinamento militar caracteriza-se pela prática de exercícios extremamente intensos de forma sistemática (Aizawa, 1995), onde, normalmente, ocorre a privação de sono e a redução da ingestão de alimentos e da hidratação, causando grande estresse metabólico e funcional (Makras, 2005, Nindl, 2006). Durante essas atividades, os militares costumam andar (marchar) por grandes distâncias, com vestimentas (fardamento) que prejudicam a troca de calor com o meio ambiente, carregando armamento e equipamento, que chegam a representar mais do que 30% de sua massa corporal (CMNR, 2005), e com privação de energia que varia de 2500 a 4500 Kcal/dia (Nindl, 2007). As marchas podem durar mais de um dia e são

realizadas, normalmente, em percurso com aclives e declives. A marcha em declive tem um grande componente excêntrico e, por isso, pode agravar o risco de ocorrência de danos musculares (Nottle, 2005).

Nessas situações, os militares realizam exercícios que vão muito além de seus limites fisiológicos, ficando predispostos a desenvolver um conjunto variado de perturbações como: supressão de alguns fatores de crescimento circulantes, níveis elevados de desidratação e desequilíbrios eletrolíticos, perda de massa magra, aumento da susceptibilidade a infecções, redução da capacidade física e cognitiva, surgimento de lesões e de rabiólise (Nindl 2006).

1.2.2 Exercício Físico e Lesão Muscular

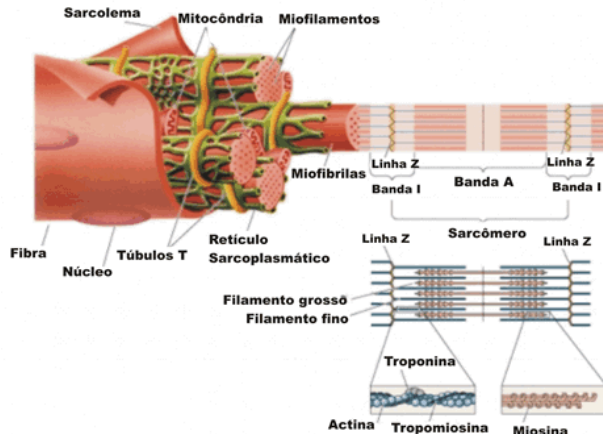
O exercício físico, naturalmente, já causa microtraumas teciduais adaptativos no músculo esquelético, que resultam em uma resposta inflamatória moderada, visando adaptação muscular. Na maioria das vezes, ocorre a recuperação dos traumas, como parte do processo de adaptação do treinamento físico (Smith, 2004). Entretanto, se não houver tempo suficiente entre as sessões para a recuperação (Mayhew, 2005), ou se a sobrecarga for excessiva, os períodos de exercícios intensos exigem que o mesmo trabalho seja realizado por uma menor quantidade de fibras saudáveis, aumentando a probabilidade de lesão. A continuidade do exercício com dor acarretará a laceração de mais fibras, agravando o quadro e retardando a recuperação (Clarkson, 2002).

Assim, atletas e indivíduos que realizam sessões mais longas de atividades físicas intensas, estão sujeitos a uma maior incidência de danos musculares, tendo em vista o aumento da sobrecarga imposta ao aparelho locomotor (Bullock, 2010). Essa carga excessiva de exercício pode causar danos no sarcolema, na lâmina basal, nos elementos contrácteis e no citoesqueleto (Koch, 2014), resultando na desestruturação de componentes musculares, como as membranas, a linha Z, o sarcolema, os túbulos T e as miofibrilas (Figuras 1 e 2).

O dano muscular pode ocorrer em diferentes magnitudes dependendo do tipo de contração. Neste caso, as contrações excêntricas têm sido relacionadas com a ocorrência de lesões (Brancaccio, 2008). As ações excêntricas ocorrem quando o

músculo é alongado enquanto está sob tensão (Figura 3 b), devido a uma força externa maior que a força gerada pelo músculo, desacelerando o movimento de forma controlada (Lastayo, 2003). Para isso, um menor número de unidades motoras é recrutado para uma mesma carga de trabalho, ocorrendo, assim, maior tensão por área de seção transversal ativa (Malm, 1999).

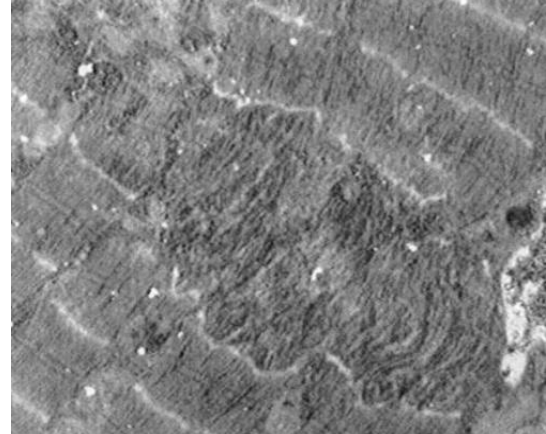
Figura 1 – Organização da Fibra Muscular



Estrutura e organização da fibra muscular e dos mecanismos contráteis.

Adaptado de <http://magisnef.wordpress.com> (2007)

Figura 2 – Dano Muscular.

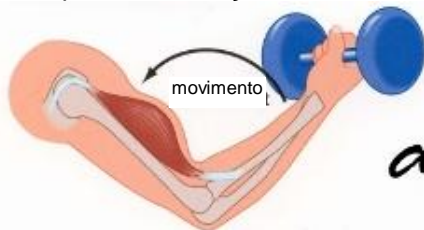


Eletromicrografia ilustrando dano muscular e desestruturação das linhas Z

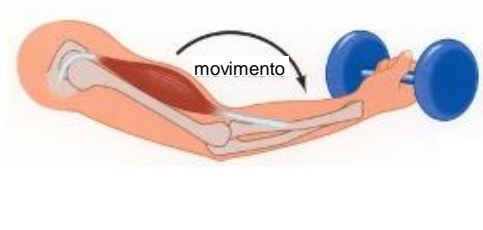
Adaptado de Clarkson, 2002.

Figura 3 – Tipos de Contração

a



b



As contrações que implicam em movimento articular podem ser classificadas em: a) concêntricas e b) excêntricas. Adaptada de <http://bodyandmindmb.blogspot.com.br/2012/01/contracao-excentrica-vs-hipertrofia.html>

Além do tipo de ação muscular, da recuperação e da sobrecarga, outros fatores, como a alimentação parecem influenciar, já que somente as fibras não lesionadas e bem nutridas funcionam adequadamente (Bullock, 2010). Atletas e indivíduos em intenso gasto de energia precisam ingerir energia de forma adequada durante períodos de treinamento de alta intensidade ou longa duração para manter a massa corporal e a saúde e maximizar os efeitos do treinamento. Refeições de baixo poder energético podem resultar, entre outras consequências, em perda de massa

muscular e de densidade óssea e no aumento do risco de fadiga, lesão e doença, além de retardar o processo de recuperação (ACSM, 2009).

Assim, a ocorrência de lesões musculares é bastante comum em atividades militares, já que frequentemente elas são de longa duração e de alta intensidade, são realizadas com sobrecarga excessiva, com pouco ou nenhum intervalo de recuperação e com a execução de contrações excêntricas (Nindl, 2013). Confirmando isso, estudos com militares americanos mostram que de 743.547 lesões musculoesqueléticas relatadas, em 2006, no serviço militar americano, cerca de 82% foram classificadas como dor/inflamação e relacionadas à sobrecarga excessiva (Hauret, 2010). Estudo com militares britânicos também relata elevada taxa de lesões no Exército Britânico e que o treinamento físico e o treinamento militar estão associados com 56% dos casos de lesão (Wilkinson, 2011). Tais dados evidenciam a alta intensidade com que é realizado o treinamento militar, se comparando a resultados de atletas que realizam exercícios de longa duração e alta intensidade, como ultramaratonistas (Hoffman, 2014).

Sabe-se que militares, assim como atletas, necessitam desenvolver e manter altos níveis de aptidão física para conseguirem suportar a alta demanda física das tarefas que eles realizam, porém essa rotina de treinamento pode resultar em lesões (Knapik, 2013). Entretanto, até o momento, não se sabe o limite até onde se deve treinar para melhorar a condição física, sem que isso acarrete em efeito nocivo ao invés de protetor.

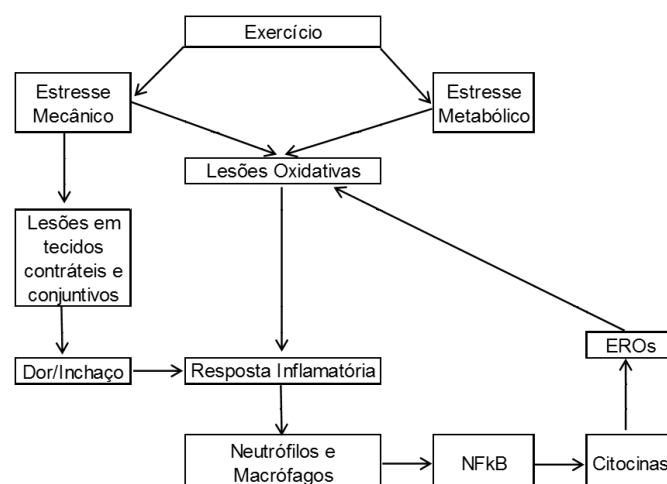
1.2.2.1 Mecanismo da Lesão Muscular

O exato mecanismo que leva ao dano tecidual não é totalmente compreendido, porém, acredita-se que envolvem aspectos metabólicos, além dos mecânicos, com a contribuição relativa variando de acordo com a duração, intensidade e o tipo de exercício realizado (Tee, 2007). Em uma fase inicial, sugere-se que o dano seja causado tanto pela força mecânica que é imposta à musculatura, como pela formação excessiva de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (EROs) que ocorre durante o exercício físico intenso (Bowtell, 2011).

A segunda fase da ocorrência do dano muscular é caracterizada pela resposta inflamatória a esse quadro, com conseqüente migração de neutrófilos e macrófagos para o tecido danificado, degradando o tecido pela liberação de EROs e de óxido nítrico (Bowtell, 2011). As EROs atuam como mensageiros das vias de sinalização intracelular das células inflamatórias. Um exemplo é a ativação do fator nuclear *kappa* B (NFκB), induzida pelo peróxido de hidrogênio e bloqueada por vários antioxidantes, incluindo a vitamina E. O NFκB é um fator de transcrição, envolvido na regulação de numerosos genes pró-inflamatórios, incluindo muitas citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF-α) e as interleucinas (IL1, 6, 10 e 2), entre outras (Leite, 2003). Dessas citocinas, as IL-6, 10 e 2 são usadas como marcadores da inflamação derivada de dano muscular ocorrido pela prática de atividade física, por ser reconhecido que a concentração das mesmas aumenta marcadamente na circulação, após exercício prolongado. Já a concentração circulante do TNF-α e da IL1 é mantida inalterada ou apresenta incrementos relativamente modestos e retardados após o exercício, apesar de serem consideradas as principais citocinas indutoras das reações na fase aguda (Suzuki, 2002).

Considerando que as citocinas têm papel benéfico na resposta metabólica e inflamatória, por aumentarem a disponibilidade de substratos energéticos e a velocidade dos processos biológicos, o aumento da sua produção gera radicais livres potencialmente tóxicos, que por sua vez, podem aumentar ainda mais a produção de citocinas pela ativação do NFκB (Leite, 2003).

Figura 4 - Processos fisiológicos da 2ª fase do dano muscular promovido pelo exercício físico



Adaptado de Cruzat, 2007

1.2.2.2 Marcadores de Lesão Muscular

A análise da extensão dos danos pode ser efetuada por medidas diretas e indiretas. Os métodos diretos são realizados através das análises de amostras do músculo ou de imagens por técnica de ressonância magnética (Clarkson, 2002). Já os métodos indiretos são obtidos principalmente por meio do registro de valores de ação voluntária máxima, aquisição de respostas subjetivas de dor (através de escalas de percepção) e análise das concentrações de enzimas plasmáticas, proteínas musculares e mioglobina no sangue, entre outras. Os métodos indiretos adotados para análise do dano muscular são os mais utilizados nos estudos em função da facilidade de coleta e, sobretudo, pelo baixo custo quando comparado aos métodos diretos (Foschini, 2007).

A creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), são enzimas encontradas, frequentemente, como marcadores de dano celular, já que são moléculas citoplasmáticas e não têm a capacidade de atravessar a membrana sarcoplasmática. Por esse fato, o aumento da concentração sérica dessas moléculas é utilizado como indicativo de dano na membrana muscular, apesar de também indicar danos em outras estruturas teciduais (Skenderi, 2006).

O aumento da concentração dessas enzimas pode ocorrer tanto após o exercício intenso, como nos valores de repouso após o exercício (Brancaccio, 2008). Assim, atletas e militares, apresentam valores de repouso dessas enzimas mais elevados do que os encontrados em não atletas, embora esta resposta ao exercício seja atenuada pela chamada repetição do exercício, que faz com que um exercício, quando repetido várias vezes, provoque menos danos nas fibras do músculo do que o exercício inicial (Mougios, 2007).

As Aminotransferases são enzimas essenciais envolvidas no catabolismo da maioria dos L-aminoácidos que chegam ao fígado, atuando na transaminação, onde são coletados os grupos amino de muitos aminoácidos diferentes na forma de apenas um, o L – glutamato, que funciona como doador de grupos amino para diversas vias (Lehninger, 2006). As Aminotransferase (AST, ALT) são enzimas presentes nos hepatócitos e, por isso, analisadas no soro para avaliar e monitorar possíveis danos no fígado e infecções virais do fígado. A AST é essencial para a

produção de energia, sendo encontrada no citoplasma e nas mitocôndrias de muitas células, particularmente no fígado, coração, músculos esqueléticos, rins, pâncreas e hemácias. A ALT é encontrada principalmente no fígado, mas também em quantidades menores nos rins, coração, músculos e pâncreas (Banfi, 2012). Essas aminotransferases também são liberadas a partir de músculos ativos e seus níveis podem aumentar após o exercício físico agudo. No entanto, os níveis de AST e ALT diferem durante e após performances desportivas (Banfi, 2012). Após corridas de longa duração a concentração de AST pode aumentar significativamente ao passo que a ALT parece não se alterar (Kratz, 2002). Já em ultramaratonas, a concentração tanto da ALT como da AST parece aumentar após a corrida, porém há aumento concomitante de outros marcadores de lesão hepática, sugerindo que essa elevação de ALT esteja mais relacionada à lesão hepática (Banfi, 2012).

A CK é uma enzima encontrada em diversos tecidos, mas, principalmente, nas células musculares esqueléticas, cardíacas e no tecido cerebral, cuja função é tamponar as concentrações de adenosina trifosfato (ATP) e adenosina difosfato (ADP), catalisando a troca reversível de ligações de fosfato de alta energia entre a fosfocreatina e o ADP produzido durante a contração, estando, assim, associada com a formação de ATP nos sistemas contráteis e de transporte (Brancaccio, 2008). A CK é uma enzima chave da energética celular, com várias isoenzimas, que são compartimentadas especificamente naqueles lugares onde a energia é produzida ou utilizada (Wallimann, 92). Existem pelo menos cinco isoformas de CK, destas, três são citoplasmáticas, compostas pela união de duas subunidades do tipo B e/ou M, em três isoformas possíveis no citoplasma: as isoenzimas CK-BB, CK-MB e CK-MM. Duas isoenzimas são mitocondriais, conhecidas como Macro CK pelo seu grande tamanho molecular, sendo produzidas pela polimerização da CK-MM e da CK-BB com imunoglobulina G (Brancaccio, 2008). A concentração sérica dessas isoenzimas fornecem informações específicas do tecido lesionado, tendo em vista a distribuição das mesmas nos diversos tecidos. A CK-MM é encontrada em diversos domínios da fibra muscular, onde o consumo de ATP é alto, sendo um marcador de desordem muscular, enquanto a CK-MB está relacionada ao infarto do miocárdio e a CK-BB a danos cerebrais (Brancaccio, 2008).

A concentração de CK no sangue tem sido proposta como um dos melhores indicadores indiretos de danos musculares devido à sua fácil identificação e ao custo relativamente baixo dos ensaios para quantificá-la, sendo usada não só como

marcadora de lesão, mas, também, como um indicador da intensidade do treinamento e como marcador de “overtraining” (Koch, 2014). No entanto, alguns problemas dificultam o uso da CK com este propósito, pois há uma grande variabilidade interindivíduos, dificultando a atribuição de valores de referência confiáveis para pessoas que realizam atividade física intensa (Koch, 2014).

O pico da concentração sérica de CK ocorre de um a quatro dias após o exercício (Mougios, 2007). A concentração de CK está relacionada à massa corporal e a atividade física (intensidade e duração), com valores de repouso superiores para atletas, tendo em vista o treinamento regular a que são submetidos. Entretanto, após a realização de exercício, valores maiores são alcançados por pessoas destreinadas, demonstrando um comportamento adaptativo dos músculos treinados (Banfi, 2012). Embora os valores para os limites de referência para não atletas sejam discrepantes, tendo em vista o diferente nível de atividade física dos participantes dos estudos (Mougios, 2007), vem sendo aceito o valor aproximado de 200 U/L como o limite superior de normalidade para a concentração de CK e valores acima de 10.000 U/L como diagnóstico de rabdomiólise (Clarkson, 2006). Para atletas, o limite superior da normalidade parece variar de acordo com a modalidade esportiva, sendo propostos valores aproximados de 1300 U/L para jogadores de futebol (Lazarim, 2007) e de 1083 U/L para atletas de diferentes modalidades (Mougios). Da mesma forma, militares atingem, constantemente, durante seu treinamento, concentrações de CK mais que dez vezes acima dos limites superiores de normalidade, devendo-se considerar valores até 50 vezes acima do limite de normalidade como limites superiores para esta população (Kenney, 2012).

A LDH é uma enzima chave do metabolismo dos glicídios e que pode ser encontrada na maioria dos principais tecidos. Sua função é catalisar a oxidação reversível do lactato a piruvato, com concomitante interconversão de Nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e sua forma reduzida – NADH (Brancaccio, 2008). Assim como a CK, possui cinco isoenzimas, compartimentadas em diversos tecidos. O estudo concomitante da CK e da LDH proporciona informações adicionais quanto ao estado do músculo e das adaptações bioquímicas à carga física, pois pessoas com elevações persistentes de CK também possuem perfil alterado de LDH (Banfi, 2012). Os valores de referência da LDH são de até 190 UI/l em adultos, mas seus

valores variam de acordo com a idade, sexo, raça, massa muscular, atividade física e condições climáticas, de forma semelhante à CK (Brancaccio, 2008).

1.3 Exercício Físico e Estresse Oxidativo

1.3.1 Formação de Radicais Livres

Átomos possuem elétrons que, normalmente, são associados em pares. Se um átomo/molécula contém um ou mais elétrons não pareados e é capaz existir de forma independente, é chamado de radical livre (Halliwell, 2007). Radicais livres são muito instáveis e muito reativos, pois tendem a se oxidar, capturando elétrons de outras moléculas (Powers, 2008, Finaud, 2006). Espécies reativas de oxigênio (ERO) e de Nitrogênio (ERN) são termos genéricos que se referem não só a radicais, que não possuem elétrons não pareados na última camada, mas também a não radicais reativos derivados do oxigênio e do nitrogênio (Powers, 2008).

Algumas EROs reagem indiscriminadamente com a maioria dos compostos orgânicos essenciais à integridade e funcionalidade dos organismos vivos, exercendo efeitos altamente adversos, como o aumento na carbonilação de proteínas e na peroxidação lipídica. As membranas celulares e intracelulares, que possuem grandes quantidades de ácidos graxos poli-insaturados, são um importante alvo para o ataque de radicais livres. Além disso, essas espécies podem causar danos no DNA e danificar proteínas, podendo prejudicar o metabolismo intracelular e levar à morte celular (Zoppi, 2003).

A formação de EROs é primariamente iniciada pelo consumo do oxigênio molecular, o qual, pela sua própria estrutura é um radical (Fisher-Wellman, 2009). Durante o metabolismo aeróbio, que ocorre na mitocôndria, 90-95% do oxigênio (O_2) consumido é reduzido à água (H_2O) por uma reação tetravalente catalisada pela coenzima Q. Entretanto, 1–5% do O_2 irá formar o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (Finaud, 2006). Durante o exercício há um aumento de 10 a 20 vezes no consumo total de oxigênio do organismo e um aumento de 100 a 200 vezes na captação de oxigênio

pelo tecido muscular (Gomes, 2012, Halliwell, 1999). Baseados nisso, autores tem assumido que o aumento na produção de EROs que ocorre nos músculos contráteis é diretamente relacionado ao aumento do consumo de oxigênio durante o exercício, implicando em grande aumento na formação de $O_2^{\cdot-}$ pelos músculos esqueléticos durante exercícios aeróbios (Kanter, 1995; Urso, 2003). Entretanto, há evidências, contrárias a esse pressuposto, que revelam que a taxa de produção de $O_2^{\cdot-}$ pela mitocôndria é muito menor do que 1-5% (Powers, 2011) e que o aumento na produção de EROs pode ocorrer durante o exercício aeróbio e anaeróbio (Fisher-Wellman, 2009).

A formação de EROs durante o exercício físico pode ser induzida de diversas formas, variando de acordo com o órgão ou tecido estudado, tempo específico de análise, ou ainda, de acordo com o metabolismo predominantemente envolvido no exercício físico em questão (Finaud, 2006). Vários mecanismos foram identificados para o aumento na produção de EROs durante o exercício, porém, ainda não é bem compreendido como cada mecanismo contribui para a formação total das EROs. Assim, durante o exercício, embora a produção de espécies reativas ocorra principalmente através da contração muscular, outros mecanismos que podem ocorrer com o exercício, como os processos inflamatórios e o aumento da liberação de catecolaminas, também desempenham um papel importante na geração de espécies reativas (Gomes, 2012). Além disso, provavelmente, diferentes tipos de exercício desencadeiam diferentes vias de produção de radicais livres (Vollaard, 2005).

Cabe ressaltar, entretanto, que a síntese de ERO também pode ser induzida em períodos de repouso, sobretudo após a realização de exercícios físicos, onde se observa um déficit de O_2 (Petry, 2010). Duas fontes importantes são o processo de isquemia e reperfusão tecidual e na resposta inflamatória (Fisher-Wellman, 2009)

As citocinas pró-inflamatórias ajudam as defesas antioxidantes, aumentando as atividades de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPx) (Tyler, 2012, Gomez-Cabrera, 2005). Além do sistema de defesa enzimático, existe o sistema não enzimático, que inclui compostos sintetizados pelo organismo humano como bilirrubina, hormônios sexuais, coenzima Q, ácido úrico, e outros, ingeridos através da dieta regular ou via suplementação como o ácido ascórbico e o α -tocoferol (Schneider, 2004). A

resposta do sistema não enzimático às citocinas pró-inflamatórias, porém, permanece pouco conhecida.

A formação de oxidantes, quando resultam em concentrações baixas e moderadas, afetam de forma benéfica a aptidão física, o envelhecimento e a síndrome metabólica, entre outros aspectos (Powers, 2008, Brigelius-Flohé, 2009). Porém, quando ocorre um desequilíbrio entre a produção oxidante e as defesas antioxidantes, de maneira que as primeiras sejam predominantes, pode-se dizer que um organismo encontra-se sob estresse oxidativo, o que pode resultar em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos (Finaud, 2006). Além desses danos, o aumento do estresse oxidativo parece estar relacionado com a síndrome de overtraining em atletas de elite (Tanskanen, 2011). Assim, o treinamento militar, que se caracteriza por comportamentos extremos, constantemente expõe os participantes a aumentos na produção de EROs e ao estresse oxidativo (Vázquez-Medina, 2012).

O estresse oxidativo induzido pelo exercício pode disparar adaptações tecido específicas em resposta ao treinamento físico, por meio de um mecanismo regulatório complexo (Leeuwenburgh, 1997), modulando o sistema de defesa antioxidante e reduzindo o estresse oxidativo induzido pelo exercício (Finaud, 2006). Porém, a magnitude da melhora do sistema de defesa antioxidante parece depender do tipo e das cargas de treinamento (Tanskanen, 2011, Margaritis 1997) e da repetição do gesto específico durante o treinamento (Nikolaidis, 2007). O exercício contínuo e uma alta carga de treinamento aumentam a proteção antioxidante enzimática (Koury et al., 2004). Além disso, uma melhor condição física parece proporcionar benefícios adicionais, já que quanto maior o $VO_{2máx}$, maior a atividade da glutathione peroxidase (GPx) nos eritrócitos, protegendo o organismo do dano à membrana celular e reduzindo lesões (Margaritis, 1997). Estudo com militares confirma esse pressuposto, demonstrando que aqueles menos aptos fisicamente são duas a três vezes mais propensos a sofrer lesão (Bullock, 2010).

Alguns autores buscaram determinar o dano oxidativo decorrente do exercício, mas os resultados foram antagônicos (Bloomer, 2006, Hudson, 2008, Rietjens, 2007, Howatson, 2010, Bowtell, 2011). Entretanto, essa variação pode ser atribuída às diferenças no protocolo de exercícios e ao uso de uma grande variedade de indicadores desse dano, assim como à instabilidade de alguns marcadores bioquímicos que podem permanecer alterados por vários dias após a

realização de exercícios intensos (Bowtell, 2011). Enquanto alguns marcadores, como a proteína carbonilada, a catalase e a glutathione reduzida são considerados indicadores confiáveis do estado redox, outros, como o TBARS, a xantina oxidase e a capacidade antioxidante total são fracamente correlacionados com esse estado (Bowtell, 2011, Veskokis, 2009).

Assim, o pouco conhecimento sobre a influência da condição física no aumento da defesa antioxidante e na redução do risco de lesão muscular, justifica o estudo deste tema em indivíduos sadios bem treinados. A Prova Aspirante Mega, realizada pelos cadetes do 3º ano do Curso de Infantaria da Academia Militar das Agulhas Negras (AMAN), é uma atividade militar de altíssima intensidade capaz de provocar severas lesões musculares e resposta adaptativa inflamatória, sendo um bom modelo de estudo.

1.4 Objetivo

Investigar a influência do condicionamento físico sobre indicadores bioquímicos de lesão muscular e da capacidade antioxidante em militares treinados.

1.5 Hipótese

A capacidade antioxidante está relacionada à condição física refletindo maior adaptação ao exercício militar intenso e prolongado.

1.6 Metodologia

1.6.1 Amostra

Participaram do estudo 71 cadetes, voluntários, saudáveis, fisicamente ativos, do gênero masculino, com $20,2 \pm 1,7$ anos, estatura média de $1,69 \pm 0,6$ m e massa corporal de $72,5 \pm 8,1$ kg. Nenhum participante apresentou contraindicações para a prática de exercícios físicos.

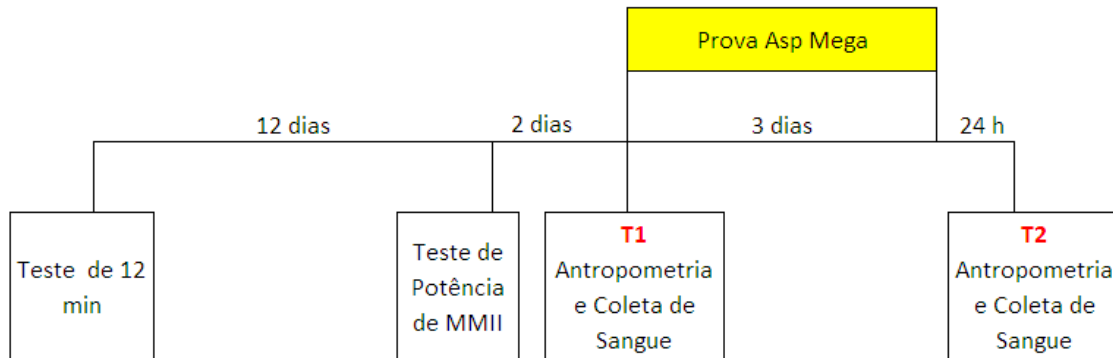
Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil (COEP 008/2011). Os sujeitos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e foram informados de todos os procedimentos experimentais.

1.6.2 Delineamento Experimental

A Operação Aspirante (Asp) Mega consiste em três dias de atividades militares continuadas (sem interrupção para descanso), sendo caracterizado por esforços intensos que demandam grande gasto energético. É realizada pelos cadetes do 3º ano do Curso de Infantaria da Academia Militar das Agulhas Negras (AMAN). A sequência das atividades previstas no procedimento experimental para acompanhar essa prova está descrita no Anexo A.

O procedimento experimental seguiu a cronologia apresentada na Figura 3. A potência aeróbia (Cooper, 1968) foi avaliada 14 dias antes da prova, já que esse teste é uma atividade de grande intensidade, que poderia levar os marcadores de lesão a permanecerem elevados por 7 a 10 dias após a mesma (Helers, 2002, Brancaccio, 2007). A potência muscular de membros inferiores (Markovic, 2004) foi avaliada 2 dias antes da prova. Após os testes físicos todos permaneceram realizando atividades físicas de rotina. Foram realizadas duas coletas de sangue, a primeira 12 h antes do início da Prova e a segunda 24 horas após a mesma.

Figura 5 – Procedimento Experimental



Na noite anterior à prova, os cadetes partiram para uma marcha noturna (24 km), com duração aproximada de oito horas, fardados, equipados (\pm 20kg) e com seu armamento individual (Fz 7,62 – FAL). Durante três dias, sem intervalo para repouso, os cadetes passaram por sucessivas oficinas onde foi testada a resistência física e psicológica, além de seu conhecimento profissional.

1.6.2.1 Avaliação do condicionamento físico

Foi aplicado o teste de 12 minutos para predição da potência aeróbia. Neste teste os cadetes correram a maior distância possível, em 12 min, numa pista plana de Taraflex[®], marcada de 50 em 50 metros. Para classificação dos militares foi utilizada a tabela do Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACSM, 2010), que classifica, conforme o resultado no teste de 12 min, em: Muito Ruim (MR; 1690 – 2140m), Ruim (R; 2204 – 2334m), Médio (M; 2398 – 2527m), Bom (B; 2543 – 2704m), Excelente (E; 2784 – 2913m), e Superior (S; 3026 – 3251m). Baseado nos resultados obtidos, os cadetes foram classificados nos três últimos grupos de condicionamento aeróbio (B, E e S).

A potência muscular de membros inferiores foi determinada aplicando o protocolo específico na plataforma de força bipodal Cefise[®]. Os militares realizaram três saltos verticais, buscando a maior impulsão possível, com um intervalo de 20 segundos entre os mesmos. Por meio deste procedimento foi adquirida a curva de força de reação vertical contra o solo, possibilitando a medida da altura de voo (cm). Baseado na altura de voo, os cadetes foram divididos em três grupos: Superior (S),

Excelente (E) e Bom (B). Essa divisão foi realizada de acordo com o percentil (P) em que se encontravam, sendo considerados como S quando \geq ao P 75, como E quando \geq ao P 25 e $<$ ao P 75 e como B quando $<$ P 25.

1.6.2.2 Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica foi realizada anteriormente a qualquer atividade, sob supervisão de um antropometrista qualificado, envolvendo medição de massa corporal total (balança digital Fillizola[®], com precisão de 10 g), estatura (estadiômetro portátil Samy[®] com precisão de 0,1 cm) e de dobras cutâneas (peitoral, abdominal e coxa média), aferidas com plicômetro Lange[®], com precisão de 0,1 mm. A partir dessas dobras foi estimada a densidade corporal, utilizando a equação de Jackson & Pollock (1978), com a posterior predição da gordura corporal (Siri, 1961).

1.6.2.3 Consumo alimentar

Durante os três dias de realização da Prova, o consumo de alimentos foi controlado e padronizado de acordo com os responsáveis pela alimentação. O porcionamento e a qualidade dos alimentos foram semelhantes para todos os participantes. O consumo de alimentos durante a prova foi observado pela razão resto:ingestão. Para o cálculo do conteúdo em nutrientes foi utilizado o software Avanutri[®].

1.6.2.4 Coleta de sangue

Foram coletadas duas amostras de sangue (15 mL), a primeira 12h antes do início da prova (T1) e a segunda 24h após a conclusão da mesma (T2), ambas após

jejum de 12 horas. A coleta de sangue foi realizada com os indivíduos sentados, sendo a amostra retirada do sangue venoso do braço, sem interrupção da circulação, utilizando dois tubos a vácuo vacutainer. Após a coleta, um dos tubos, sem anticoagulantes ou conservantes, ficou em repouso por 30 min para coagulação do sangue e, em seguida, foi centrifugado a 3000 rpm, durante 15 min, para obtenção do soro. O segundo tubo, contendo anticoagulante (EDTA), foi centrifugado em centrífuga refrigerada a 3.000 rpm, para a obtenção do plasma. As alíquotas de soro e plasma foram armazenadas a -20° C, para posterior análise dos indicadores bioquímicos.

1.6.2.5 Indicadores do dano muscular

Para avaliar o dano muscular foram determinadas as concentrações séricas de creatina quinase (CK MM) e lactato desidrogenase (LDH) através de analisador automático Express Plus 550[®] (kit comercial, Ebram).

1.6.2.6. Capacidade antioxidante

Para análise da capacidade antioxidante total foi usado o método da estabilização do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) por antioxidantes plasmáticos, produzindo uma alteração colorimétrica, sendo os resultados expressos como percentual de sequestro do radical calculado como $(1 - \text{Absorbância da amostra} / \text{Absorbância do padrão}) \times 100$. Esse teste consiste na varredura do radical livre DPPH (um composto relativamente estável em solução alcoólica, com um pico de absorvância em $\lambda = 517 \text{ nm}$ (A517)) por um complexo de antioxidantes em uma amostra de ensaio (BRAND-WILLIAMS, 1995).

1.6.2.7. Tratamento Estatístico

A análise estatística foi realizada no “software” “Statistica for Windows[®]” versão 7.0. Para verificar a diferença entre a massa corporal e o percentual de gordura dos militares, antes e após a Prova Asp Mega, foi realizado o teste *t*, pareado, de Student. Para analisar os parâmetros bioquímicos e de capacidade antioxidante foi realizado o teste ANOVA 3 x 2 (grupos x coletas) com medidas repetidas no segundo fator. Foram considerados como variáveis independentes os três grupos de condicionamento (S, E e B) e como dependentes os indicadores bioquímicos antes e após a Prova (T1 e T2). Para identificar as diferenças foi utilizado o teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Todos os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão.

1.7 Resultados

Os militares classificados de acordo com a potência aeróbia apresentaram homogeneidade quanto às características antropométricas iniciais (Tabela 1). No entanto, quando classificados pela potência de membros inferiores, a MC dos grupos B e S foram diferentes significativamente ($p < 0,03$) (Tabela 2). Considerando todos os militares ($n=87$), foi observada redução da MC (T1 - $72,5 \pm 7,9$ kg; T2 - $71,9 \pm 8,0$ kg; $p < 0,001$) e da gordura corporal (T1 - $10,6 \pm 3,0$ %; T2 - $9,9 \pm 3,0$ %; $p < 0,001$).

Tabela 1. Características antropométricas e de composição corporal dos militares classificados por grupos de potência aeróbia definida pelo teste de 12 minutos.

Classificação	n	Distância (m)	Massa Corporal (kg)	Gordura Corporal (%)	Estatura (cm)
Bom	12	2696 ± 112^a	$73,5 \pm 7,7$	$11,0 \pm 4,8$	$171,6 \pm 6,0$
Excelente	54	2883 ± 54^b	$72,5 \pm 8,5$	$10,8 \pm 2,7$	$170,3 \pm 6,6$
Superior	21	3100 ± 104^c	$71,9 \pm 6,6$	$9,8 \pm 2,5$	$168,9 \pm 5,3$

Valores com letras diferentes no supra-índice na mesma coluna são significativamente diferentes (ANOVA; $p < 0,0001$).

Tabela 2. Características antropométricas e de composição corporal dos militares classificados por grupos de potência muscular.

Classificação	n	Altura salto (cm)	Massa Corporal (kg)	Gordura corporal (%)	Estatura (cm)
Bom	28	34,2 ± 3,1 ^a	75,2 ± 7,6 ^a	11,4 ± 3,5	170,1 ± 5,7
Excelente	32	43,8 ± 2,8 ^b	72,4 ± 8,2	10,3 ± 2,6	169,9 ± 5,9
Superior	20	53,6 ± 5,3 ^c	69,2 ± 7,8 ^b	10,5 ± 2,5	169,7 ± 5,8

Valores com letras diferentes no supra-índice na mesma coluna são significativamente diferentes (ANOVA one-way; altura do salto $p < 0,0001$; massa corporal $p < 0,03$).

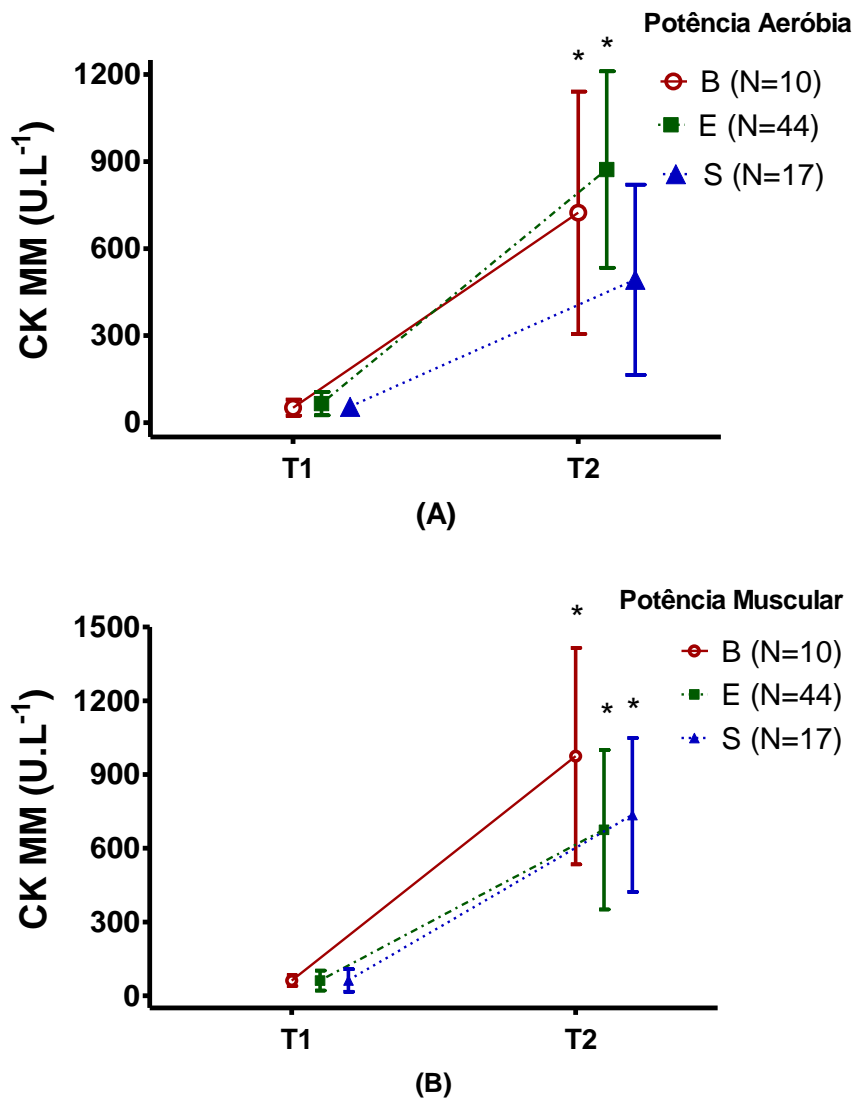
Durante os três dias da prova o cardápio foi padronizado e todos receberam o mesmo porcionamento durante as refeições, como não foi observado resto, a ingestão total do porcionamento garantiu a ingestão similar dos nutrientes. Quando comparados aos valores médios diários estimados para militares nesta faixa etária e gênero, verificou-se que a ingestão de carboidratos e de energia ficou 28,1 e 38,3 %, respectivamente, abaixo da recomendada pelas “Military Dietary Reference Intakes” (MDRI, 2001). Quanto aos micronutrientes, o consumo de vitamina E e Selênio foi inferior 44,7 e 40,4 %, respectivamente e a ingestão de vitamina C foi 600% superior ao recomendado pelas MRDI (Tabela 3).

Tabela 3 – Consumo médio de nutrientes considerando os três dias de Prova

Nutriente	Média	DP
Proteínas		
(g/dia)	95,3	9,4
(% de energia ingerida)	15,6	1,0
(g /kg massa corporal)	1,3	0,1
Carboidratos		
(g/dia)	355,7	5,7
(% de energia ingerida)	58,5	3,1
(g /kg massa corporal)	4,8	0,1
Lipídeos		
(g/dia)	70,2	8,5
(% de energia ingerida)	25,9	2,2
(g /kg massa corporal)	1,0	0,1
Energia (kcal/dia)	2435,8	91,2
Energia/massa corporal (kcal/kg)	33,1	1,2
Vitamina C (mg)	630,9	44,0
Vitamina E (mg)	8,3	0,5
Selênio (µg)	32,8	1,0

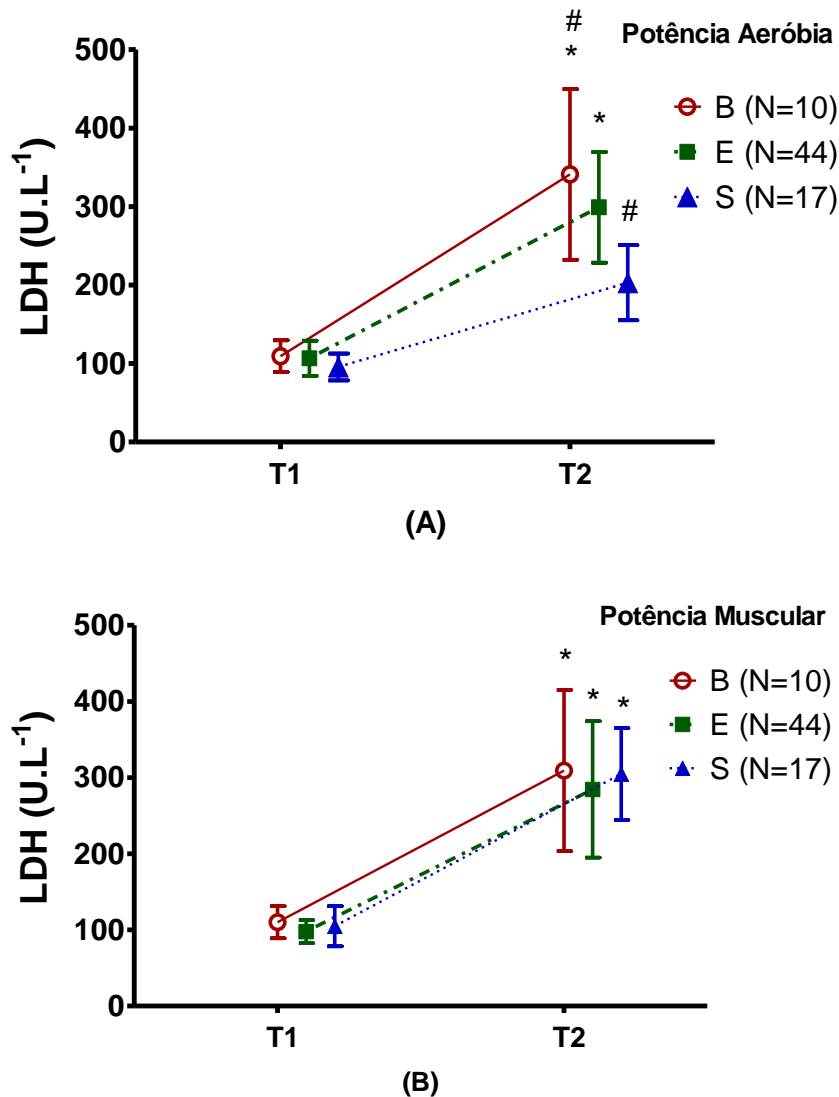
A concentração sérica de CK MM foi semelhante em todos os grupos, seja no pré-teste (T1) ou no pós-teste (T2), tanto ao se estratificar pela potência aeróbia como pela muscular (Figura 6. (A) e (B)). Na análise intragrupos, quando estratificados pela potência aeróbia, foi observado um aumento significativo, entre T1 e T2, apenas nos grupos B ($\uparrow 2105\%$; $p=0,03$) e E ($\uparrow 1469\%$; $p<0,001$) (Figura 6. (A)). Ao se estratificar os grupos pela potência de membros inferiores (MMII), foi observado o aumento significativo em todos os grupos (B $\uparrow 1881\%$, $p<0,001$; E $\uparrow 877\%$, $p<0,04$; S $\uparrow 1989\%$, $p=0,01$) (Figura 6. (B)).

Figura 6. Concentração plasmática de CK MM, de acordo com a classificação da potência aeróbia (A) e com a classificação da potência muscular de MMII (B), antes (T1) e após (T2) a prova. * Diferença intragrupos (ANOVA; $p<0,05$).



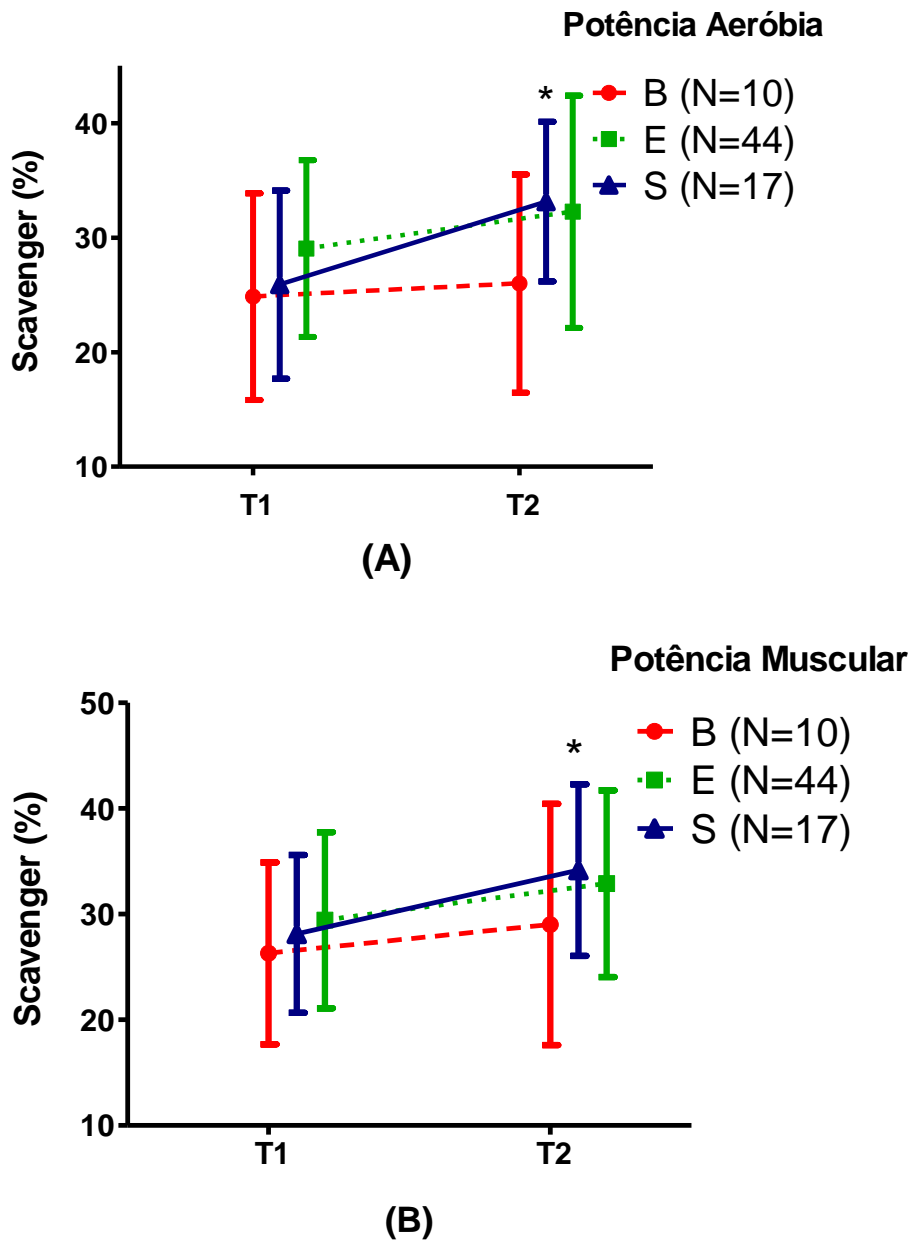
A concentração sérica de LDH foi semelhante, para todos os grupos, em T1 (Figura 7. (A) e (B)). Após a prova (T2), a concentração de LDH no B foi significativamente maior que no S ($p=0,004$). Na análise intragrupos, foi observado um aumento significativo, entre T1 e T2, nos grupos B ($\uparrow 318,4\%$; $p<0,001$) e E ($\uparrow 269,7\%$; $p<0,001$), quando estratificados pela potência aeróbia (Figura 7. (A)). Ao se estratificar os grupos pela potência de membros inferiores (MMII), foi observado o aumento significativo em todos os grupos (B $\uparrow 268,3\%$, $p<0,001$; E $\uparrow 261,5\%$, $p=0,001$; S $\uparrow 311,1\%$, $p<0,001$) (Figura 7. (B)).

Figura 7. Concentração plasmática de LDH, de acordo com a classificação da potência aeróbia (A) e com a classificação da potência muscular de MMII (B), antes (T1) e após (T2) a prova. * Diferença intragrupos (ANOVA; (A) $p<0,001$ e (B) $p<0,01$). # Diferença intergrupos (ANOVA; $p=0,004$).



O percentual de sequestro de radicais livres foi semelhante para todos os grupos tanto em T1 como em T2 (Figura 8. (A) e (B)). Na análise intragrupos, tanto ao estratificar pela potência aeróbia como pela muscular, o grupo S apresentou maior percentual de sequestro (128,0%, $p < 0,0001$; 121,5%, $p < 0,03$, respectivamente) (Figura 8. (A) e (B)).

Figura 8. Percentual de sequestro de radicais de acordo com a classificação do teste de potência aeróbia (A, $*p < 0,0001$) e a classificação do teste de potência muscular (B, $*p < 0,03$) (ANOVA).



1.8 Discussão

Sabe-se que o treinamento militar demanda grande esforço físico, exigindo força e resistência, tanto física quanto mental (Li, 2013). Na verdade, o treinamento militar é, muitas vezes, mais rigoroso que o de atletas, pois o treinamento militar, além de envolver atividades físicas prolongadas com intensidade variando de alta para moderada, envolve agentes estressores numerosos e variados, como: mudanças de temperatura, altitude, umidade, privação de sono, água, déficit energético na dieta e desafios psicológicos. Estes múltiplos estressores podem induzir à lesões e alterações nas respostas imuno-endócrinas que amplificam as alterações induzidas pelo exercício (Institute of Medicine (US), 1999, Walsh, 2011).

No presente estudo, vários desses fatores estavam presentes, como as mudanças de temperatura, a privação de sono e os desafios psicológicos. Com relação à alimentação, de forma semelhante aos atletas em períodos de treinamento de alta intensidade ou longa duração, os militares necessitam consumir energia suficiente para manter o peso corporal e a saúde e maximizar os efeitos do treinamento. Baixo consumo de energia pode resultar em perda de massa muscular, e de densidade óssea, aumento do risco de fadiga, lesões e doenças, além de prolongar o processo de recuperação (ACSM, 2009).

No presente estudo, apesar da distribuição adequada na oferta de macronutrientes, o consumo calórico ficou 39 % abaixo do recomendado (MDRI, 2001), tendo em vista que outros estudos com militares (Booth, 2003, Committee on Military Nutrition Research, 2005, Tharion, 2005) preveem, para operações de combate semelhantes, um gasto calórico de 4000 – 4500 kcal por dia. Entretanto, esse balanço calórico negativo é usual em operações militares, e o consumo é, normalmente, de aproximadamente 2400 kcal/dia, seja porque a oferta é insuficiente, seja por outros fatores ambientais e fisiológicos que levam a diminuição do apetite (Committee on Military Nutrition Research, 2005, Tharion, 2005).

A oferta abaixo das necessidades energéticas pode ser um dos fatores responsáveis pela redução da massa corporal total em 69% dos militares e do percentual de gordura em 86%, quando considerados todos os militares, sendo a redução de cerca de 1 e 7%, respectivamente. Essa perda de massa corporal pode contribuir para o surgimento de consequências adversas, como redução da

performance, perda da massa muscular e lesões musculares, entre outras (Committee on Military Nutrition Research, 2005, Tharion, 2005).

A ingestão de nutrientes potencialmente antioxidantes, apesar de inadequada, com a vitamina E e Selênio abaixo e a Vitamina C acima das recomendações (MDRI, 2001), provavelmente, não interferiu na resposta da capacidade antioxidante plasmática, tendo em vista que foi semelhante para todos os grupos, e as diferenças encontradas devem ser decorrentes das diferenças de condição física.

As enzimas creatina quinase (CK MM) e a lactato desidrogenase (LDH) são consideradas como marcadores sensíveis de lesões musculares (Clarkson, 2006, Lazarim, 2007, Mougios, 2007), pois, como atuam no interior da célula e não tem a capacidade de atravessar a barreira da membrana sarcoplasmática, o aumento da concentração sérica dessas moléculas indica dano na membrana da fibra muscular, no sarcolema e nos elementos contrácteis (Foschini, 2007).

Os estudos realizados com atletas apontam para o aumento na concentração dessas enzimas, decorrente da pesada carga de trabalho a que são impostos e indicam que os valores de referência para essa população devem ser alterados (Lazarim, 2007, Mougios, 2007), sendo considerados como valores de normalidade a contração de aproximadamente 1100 U/L (Mougios, 2007). Valores muito altos (cerca de 10.000 U/L) indicam rabdomiólise e são considerados potencialmente perigosos (Clarkson, 2006). Da mesma forma, estudos com militares demonstram que a elevação da CK, assim como a dor muscular, é frequente durante treinamentos militares (Kenney, 2012, Landau, 2012) e que valores até 50 vezes acima do limite de normalidade são considerados normais em militares (Kenney, 2012)

Os resultados do presente estudo mostram que a concentração média de CK MM em T1 permaneceu dentro da normalidade ($58,5 \pm 33$ U/L) e sem diferença entre os grupos. Em T2, entretanto, verificou-se que os valores ultrapassavam a normalidade (782 ± 363 U/L). Apesar de 29% dos cadetes apresentarem concentrações superiores aos limites superiores previstos para atletas, nenhum deles ultrapassou os limites para militares. O comportamento da LDH foi semelhante ao da CK, reforçando os achados e indicando que as atividades realizadas durante a Prova são de alta intensidade.

Apesar das concentrações de CK MM e LDH terem aumentado em T2, ocorreu um menor aumento nessas enzimas nos cadetes com melhor condicionamento

aeróbio, quando comparados os valores em T1 e T2, sugerindo que os mesmos estariam sujeitos a uma menor ocorrência de microlesões durante esse tipo de atividade. Porém, o motivo pelo qual os melhores condicionados tem menor incidência de lesão não parece bem esclarecido. Isso pode ocorrer porque o treinamento aeróbio leva a repetição de um exercício por vários dias ou mesmo semanas, e essa repetição faz com que cada exercício cause menos danos nas fibras do músculo do que a causada pelo exercício anterior (Mougious, 2007).

Tal achado corrobora os resultados encontrados anteriormente (Bijur, 1997), em que se verificou que um melhor condicionamento físico inicial, medido pelo teste de 2 milhas, diminuía, de forma considerável, a incidência de lesões durante o treinamento básico de cadetes americanos. Da mesma forma, foi verificado que os recrutas com pior condicionamento, ao iniciarem o serviço militar, são mais propensos a lesões (Molloy, 2012). Entretanto, ao nosso conhecimento, não existem trabalhos que tenham verificado o comportamento de marcadores de lesão em grupos estratificados por nível de condicionamento físico, antes e após uma operação militar de alta intensidade.

Diversos estudos tem mostrado que o exercício intenso provoca um aumento na produção de EROs (Powers, 2008). Esse aumento pode contribuir para o dano celular, quando duradouro, mas pode ser um importante sinalizador para a adaptação muscular em resposta ao treinamento físico. Dentre essas adaptações, encontra-se o aumento da atividade das enzimas antioxidantes após uma sessão de exercício (Gandra, 2004) e o aumento da capacidade antioxidante, o qual pode ser conseguido com apenas poucos dias de exercícios consecutivos (Powers, 2011). Sabe-se, ainda, que a capacidade antioxidante em repouso é maior em pessoas treinadas e que o treinamento físico leva à melhora da capacidade antioxidante (Finaud et al, 2006). Porém, pouco se sabe sobre essa capacidade de adaptação após uma atividade extenuante e prolongada em pessoas de diferentes níveis de condição física.

No presente estudo, os resultados demonstraram que ocorreu aumento na capacidade antioxidante apenas no grupo com melhor condição aeróbia ou com maior potência de membros inferiores (S). Esses resultados sugerem que, provavelmente, a sinalização para o sistema antioxidante, após exercício militar de alta intensidade e duração, é mais eficiente em indivíduos que praticam exercícios de alta intensidade com regularidade e frequência, e, portanto, com alto

condicionamento físico. Outros estudos (Powers, 2011, Child, 1998) observaram aumento na capacidade antioxidante total do plasma após a realização de exercícios aeróbios intensos por indivíduos treinados, apesar de concomitante aumento em indicadores de peroxidação lipídica e de lesão muscular. Porém, tais estudos não fazem comparação entre pessoas de diferentes níveis de condicionamento.

O exercício físico altera o balanço entre pró-oxidantes e antioxidantes, porém a repetição desse exercício estimula os mecanismos antioxidantes celulares e aumenta a resistência a lesões induzidas pelo exercício (Cruzat, 2007).

Assim, a resposta aumentada dos antioxidantes endógenos nos grupos de MB condição aeróbia, assim como no de MB potência de MMII, parece ter influenciado na redução das microlesões musculares, conforme mostrado pelo comportamento das enzimas CK e LDH. Tal achado se contrapõe aos resultados observados por Bowtell et al. (2011) e Howatson et al. (2010), que mostraram uma dissociação entre a extensão da lesão induzida pelo exercício e o dano oxidativo. Porém, como a coleta pós-teste ocorreu 24 horas após os três dias de exercícios intensos, os militares já estariam na segunda fase do dano muscular e o aumento da capacidade antioxidante poderia ter um efeito benéfico na diminuição da resposta inflamatória. No entanto, no presente estudo não foram avaliados marcadores de inflamação.

1.9 Conclusão

Há um aumento na concentração dos marcadores de lesão muscular após a Prova Asp Mega, porém, o mesmo é menos consistente nos grupos de melhor condicionamento físico, particularmente pelo componente aeróbio.

Há um aumento na capacidade antioxidante após a Prova Asp Mega e o mesmo é mais consistente nos grupos de melhor condicionamento físico, tanto pelo componente aeróbio como pela potência de membros inferiores.

Os achados indicam que o condicionamento físico parece influenciar positivamente na redução da incidência de lesão muscular e no aumento da capacidade antioxidante. Neste caso, o aumento da capacidade antioxidante, poderia, ainda, colaborar de forma indireta para a redução no quadro das lesões dos militares, durante operações semelhantes a do presente estudo, pois poderia

combater a formação excessiva de EROs que poderiam influenciar na redução da resposta inflamatória que ocorre na segunda fase dano muscular.

2 A CONDIÇÃO AERÓBIA PODE PROTEGER CONTRA LESÕES HEPÁTICAS E MUSCULARES CAUSADAS POR TREINAMENTO MILITAR DE CURTA DURAÇÃO

Koury, JC; Daleprane, JB; Pitaluga Filho, MV; de Oliveira, CF; Gonçalves, MC;
Passos, MCF

Journal of Strength & Conditioning Research": February 2016 - Volume 30 -
Issue 2 - p 454–460

Resumo

O presente estudo objetivou quantificar e comparar marcadores bioquímicos de lesão muscular e hepática em militares após dois tipos de treinamento físico intenso e relacioná-los com marcadores de condicionamento aeróbio. Participaram do estudo 82 cadetes (20±2 anos) avaliados 12h antes do início do treinamento (T0), após 12h da execução de uma marcha de 6 km (T1) e após 48h de treinamento tático militar (T2). Foram determinadas a composição corporal, a ingestão alimentar e o condicionamento aeróbio (teste de Cooper). A quantificação sérica das enzimas creatine kinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram determinadas através de analisador automático. Todos os participantes foram classificados com excelente condicionamento aeróbio. Houve redução da massa corporal total, da massa de gordura corporal e do somatório das dobras cutâneas, em torno de 1% (p=0.002). Após 12 horas (T0-T1) e ao final da prova (T0-T2) houve aumento da concentração sérica de CK (675%; 878%, p=0,001), ALT (59%; 265%, p=0,0001), AST (336%; 418%, p=0,0001) e a razão AST/ALT (85%; 180%; p=0,001), respectivamente. Foram identificadas correlações (p<0,05) entre o condicionamento aeróbio (total de metros percorridos em 12 minutos) e a concentração sérica de ALT (r=-0.25), e CK (r=-0,21), ambas em T2. Considerando os resultados obtidos, o treinamento militar intenso é capaz de gerar lesão hepática e muscular, porém o melhor condicionamento aeróbio pode ser considerado como um fator protetor para estes tipos de lesões.

Key words: treinamento militar, condicionamento físico, marcadores bioquímicos, lesão

2.1 Introdução

No treinamento militar, assim como na prática de esportes de alta intensidade, o objetivo do treinamento é melhorar o desempenho. No entanto, o treinamento intenso e prolongado, em conjunto com o tempo de recuperação inadequado, pode levar a sérias lesões, comprometendo o desempenho físico e a saúde (Tanskanen 2011). O *overtraining*, o qual é caracterizado por uma redução inesperada do desempenho apesar da carga de treino ainda ser sustentada, pode ser considerado como uma das consequências do treinamento intenso e prolongado e de um tempo de recuperação ineficiente. Neste contexto, o dano muscular e hepático após exercício de alta intensidade resulta num aumento substancial dos níveis sanguíneos de proteínas miocelulares (Miyamoto 2013; Wells 2013; Abraham & Drory 2012). Diversas são as alterações fisiológicas com a prática de exercício físico prolongado, com elevações transitórias de marcadores bioquímicos de lesão muscular e hepática, tais como aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), creatina-quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) (Hammouda 2012; Bürger-Mendonça 2008). Poucos são os estudos que avaliam a influência do treinamento físico militar intenso e do condicionamento aeróbio sobre marcadores bioquímicos de lesão muscular e hepática (Tanskanen et al., 2011; Kim et al., 2010; Corsi et al. 2010). Assim, os objetivos foram quantificar e comparar marcadores bioquímicos de lesão muscular e hepática em militares após dois tipos de treinamento físico intenso e relacioná-los com marcadores com o condicionamento aeróbio.

2.2 Metodologia

2.2.1 Participantes

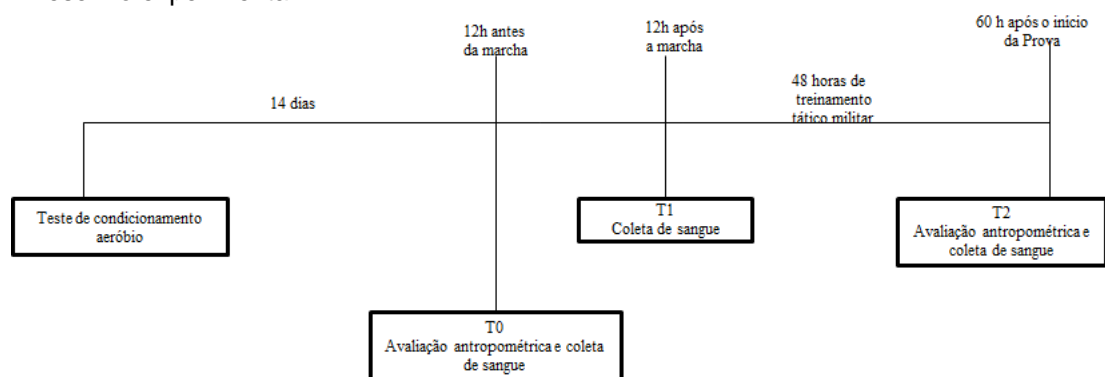
Participaram voluntariamente 87 cadetes (20 ± 2 anos), do gênero masculino, do curso de Infantaria da Academia Militar das Agulhas Negras (AMAN, Rio de Janeiro, Brasil, 2011). Todos eram saudáveis, fisicamente ativos e aptos para a

prática de exercícios físicos intensos. O estudo foi realizado durante a Prova Aspirante Mega, que tem a duração de três dias, iniciando com uma marcha de 6 km seguida do treinamento tático militar ininterrupto. Os cadetes participaram da Prova fardados, com seu armamento individual (Fz 7,62 – FAL) e conduzindo equipamento pesando aproximadamente 20 kg. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil (COEP 008/2011). Os militares foram informados sobre todos os procedimentos experimentais.

2.2.2 Delineamento Experimental

A avaliação da potência aeróbia é um teste de grande intensidade (Cooper, 1968), por este motivo os cadetes foram testados 14 dias antes da prova para não interferir nos marcadores bioquímicos de lesão, que podem permanecer elevados por 7 a 10 dias (Helers, 2002, Brancaccio, 2007). Foram realizadas três coletas de sangue, a primeira 12h antes do início do treinamento (T0), a segunda após 12h da execução de marcha em estrada a 4 km/h por 30 km, e mais 2km com sobrecarga de 20 kg em campo (T1) e a terceira 48h após treinamento tático militar (T2) (Figura 1).

Figura 1- Desenho experimental



2.2.3 Avaliação do condicionamento Físico

Foi aplicado o teste de Cooper (1968) para predição da potência aeróbia visando avaliar o condicionamento físico dos participantes. Neste teste os cadetes correram a maior distância possível, em 12 min, numa pista plana de Taraflex[®], marcada de 50 em 50 metros. Os participantes foram classificados de acordo com o total de metros percorridos, segundo o *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2010) (bom 2543 – 2704 m; ótimo 2784 – 2913 m; e excelente 3020 – 3250 m).

2.2.4 Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica foi realizada por antropometrista qualificado nos tempos T0 e T2. A massa corporal total foi determinada através de balança digital Fillizola[®] com precisão de 10 g, a estatura por estadiômetro portátil Sanny[®] com precisão de 0,1 cm, e as dobras cutâneas (peitoral, abdominal e coxa média), aferidas com plicômetro Lange[®] com precisão de 0,1 mm. Para estimativa da densidade corporal foi utilizada a equação de Jackson & Pollock (1978), com a posterior predição da gordura corporal (Siri, 1961).

2.2.5 Consumo alimentar

Durante o estudo o porcionamento e qualidade dos alimentos foram padronizados. O consumo de alimentos durante a prova foi controlado pela razão resto:ingestão. O consumo de água foi *ad libitum* durante todo o estudo. Para o cálculo do conteúdo em nutrientes foi utilizado o software Avanutri[®].

2.2.6 Coleta de sangue

Foram realizadas três coletas de sangue (15 mL), a primeira 12h antes do início da atividade física (T0), a segunda após 12h a marcha descrita acima (T1) e a terceira após 48 h do treinamento tático militar (T2). Todas as coletas foram realizadas após jejum de 12 h. As amostras de sangue foram coletadas sem anticoagulante para obtenção do soro. As alíquotas de soro foram armazenadas a -20° C, para posterior análise dos indicadores bioquímicos.

2.2.7 Indicadores bioquímicos de dano muscular e hepático

Para avaliar o dano tecidual foram determinadas as concentrações séricas das enzimas, creatina quinase (CK, valor de referencia 1.479 U/L; Mougios 2007) e aminotransferases (alanina aminotransferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST), valor de referencia de 40 U/L (Selden et al, 2009) através de analisador automático Express Plus 550® (kit comercial, Ebram). A magnitude da alteração das aminotransferases pode ser classificada em leve (<5 vezes o limite superior de referência), moderada (5-10 vezes o limite superior) e acentuada (> 10 vezes o limite superior de referência), tendo maior importância na definição etiológica a distinção entre alterações leves e acentuadas. Adicionalmente, a razão AST/ALT foi calculada para estabelecer a condição da lesão hepática como: lesão crônica (<1,0), em fase de recuperação (1,0 a <1,5) e lesão aguda ($\geq 2,0$) (Botros & Sikaris, 2013).

2.2.8 Avaliação da desidratação

Para avaliar a presença de desidratação ao longo do estudo foi determinada a densidade urinária utilizando o refratômetro (LF®). Foram considerados como valores adequados 1,002 a 1,040 (Sacher & McPherson, 2002).

2.2.9 Tratamento Estatístico

Para testar a homogeneidade dos dados foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os resultados da composição corporal, densidade da urina, análise dietética e de condicionamento aeróbio estão expressos como média \pm desvio padrão. A comparação da composição corporal (T0 e T2) foi realizada por teste t pareado e a comparação da densidade da urina em T0, T1 e T2 por ANOVA one way repetidas medidas. Os resultados dos parâmetros bioquímicos estão expressos como mediana (percentil 25-percentil75). A comparação dos indicadores bioquímicos de lesão tecidual nos períodos T0 e T1, para verificar o efeito da marcha, e entre os períodos T0 e T2, para verificar a o efeito de todo treinamento militar, foi realizada pelo teste Wilcoxon Signed Ranks. A correlação entre as variáveis foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman. A análise estatística foi realizada pelo software SPSS 17. O valor de $P < 0,05$ foi considerado como significativo.

2.3 Resultados

Os participantes percorreram, em 12 minutos, a distância média de 2.909 ± 147 m, sendo classificados como “*excelente*” em relação ao condicionamento aeróbio. De acordo com a densidade da urina os participantes mantiveram-se hidratados ao longo do estudo com densidade urinária de 1.03 ± 0.5 ; 1.03 ± 0.8 e 1.02 ± 0.9 ($P > 0.05$) em T0, T1 e T2, respectivamente. Este resultado garante a validade dos valores séricos obtidos.

Foi observada redução na massa corporal total, na massa de gordura corporal em kg e no percentual e no somatório das dobras cutâneas, em torno de 1% ($P = 0.002$) quando comparado T0 com T2. A massa livre de gordura não variou (Tabela 1).

Tabela 1. Características antropométricas e composição dos participantes no início (T0) e ao final do treinamento tático militar (T2) (n=87).

	T0	T2
Massa corporal total, kg	72,5 ± 7,9	71,9 ± 7,9 [#]
Massa gorda, %	10,6 ± 3,0	9,9 ± 3,0 [#]
Massa gorda, kg	7,7 ± 2,6	7,2 ± 2,6 [#]
Massa livre de gordura, kg	64,7 ± 6,8	64,7 ± 6,8

diferença significativa P<0,05, teste t pareado.

Durante o estudo a ingestão dos nutrientes foi semelhante para todos os participantes, sendo a razão resto:ingestão igual a zero. Os resultados de ingestão de nutrientes e energia são apresentados como média e desvio padrão dos três dias de estudo na Tabela 2. Quando comparados aos valores médios diários estimados para militares nesta faixa etária e gênero, foi observado adequação na ingestão de macronutrientes. Embora, a ingestão de energia (53%) esteja abaixo das recomendações sugeridas (60%) para militares (Military Dietary Reference Intakes, MRDI 2001). Em relação aos micronutrientes, o consumo de alfa-tocoferol (vitamina E) e selênio foi inferior a 55 e 60%, respectivamente, e a ingestão de ácido ascórbico (vitamina C) foi 700% superior ao recomendado pelas MRDI (2001) (Tabela 2).

Tabela 2 – Consumo médio de nutrientes considerando três dias de atividade física intensa (n=87).

Nutrientes		
Proteína		
	g/d	95,3 ± 9,4
	energia, %	15,6 ± 1,0
	g /kg MC	1,3 ± 0,1
Carboidrato		
	g/d	355,7 ± 5,7
	energia, %	58,5 ± 3,1
	g /kg MC	4,8 ± 0,1
Lipídeos		
	g/d	70,2 ± 8,5
	energia, %	25,9 ± 2,2
	g /kg MC	1,0 ± 0,1
Energia		
	kcal/d	2435,8 ± 91,2
Energia/MC		
	kcal/kg	33,1 ± 1,2

MC - massa corporal

No início do estudo a mediana das concentrações séricas das enzimas estudadas (CK, AST e ALT) estava de acordo com os valores de referência determinados para indivíduos saudáveis e a razão AST/ALT indicava lesão muscular

aguda (Botros, 2013). Após 12 horas inicio da prova (T0-T1), a mediana da concentração plasmática de CK (675 %; P=0,001), ALT (59 %, P= 0,0001), AST (336 %, P=0,0001) e a razão AST/ALT (85 %, P=0,001) aumentaram, assim como foi observado aumento após o final da prova (T0-T2) (CK, 878 % P=0,001; ALT, 256 % P= 0,0001; AST, 418 % P=0,0001; e a razão AST/ALT, 180 % P=0,001) (Tabela 3).

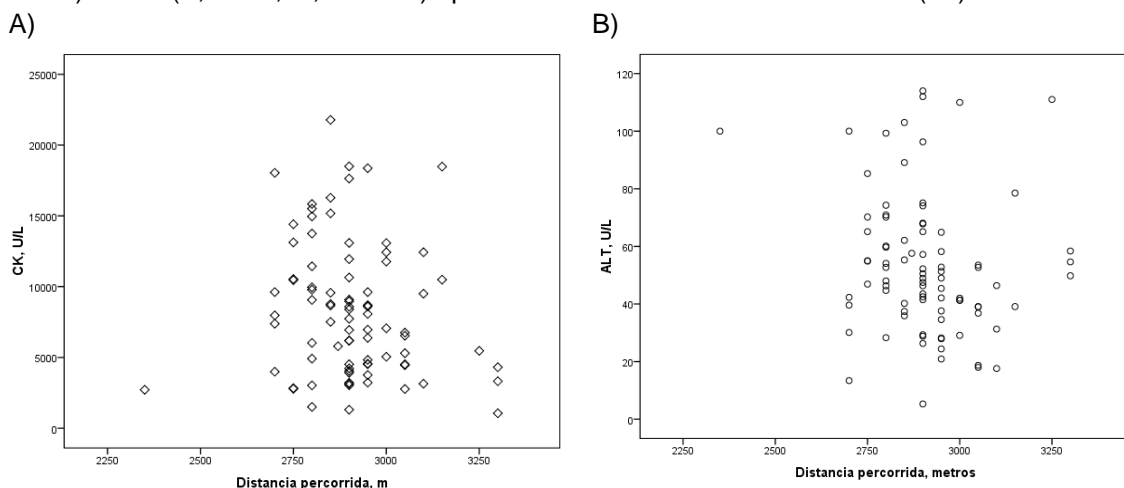
Tabela 3- Parâmetros bioquímicos de lesão muscular e hepática, 12h antes (T0), 12h após marcha (T1) e 48h após de treinamento tático militar (T2) (n=87).

	T0	T1	T2
CK, U/L	908.0 [646,75 – 1.340,5]	6.217,0* [4.278,5 – 8.539,5]	7.975,0# [4.515,0 – 11.242,0]
AST, U/L	36,6 [30,6 – 46,2]	110,0* [80,0 – 150,0]	153,0# [115,0 – 237,7]
ALT, U/L	19,1 [16,3 – 23,1]	32,2* [26,5 – 39,8]	49,0# [39,0 – 65,0]
AST/ALT	2,0 [2,7 – 4,2]	3,0* [2,5 – 3,9]	3,6# [1,6 – 2,3]

Valores expressos como mediana [percentil 25 - percentil 75]. CK- Creatinaquinase; AST-Aspartato aminotransferase; ALT-Alanina aminotransferase. * diferença significativa entre T0 e T1; # diferença significativa entre T0 e T2, P<0,05 –teste Wilcoxon Signed Ranks

Foram identificadas fracas correlações, porém significativas, entre o total de metros percorridos em 12 minutos (condicionamento aeróbio) e a concentração sérica de ALT ($r = - 0.25$; $P = 0.009$), e com a CK ($r = - 0,21$; $P = 0.05$), ambas em T2.

Figura 2- Correlação entre distancia percorrida (m) e a concentração sérica de CK (A; $r = - 0.25$; $P = 0.009$) e ALT (B; $r = - 0,21$; $P = 0.05$) após 48 h de treinamento militar intenso (T2).



2.4 Discussão

O presente estudo demonstrou que a marcha e o treinamento militar, realizados por cadetes da AMAN, foram capazes de causar lesão muscular e hepática de forma crescente. O condicionamento aeróbio sugere, de alguma forma, proteger os cadetes dessas lesões.

Estudos com militares tem demonstrado que para operações de combate de alta intensidade há um gasto energético de cerca de 4.600 kcal/dia (Tharion, 2005). Entretanto, o consumo energético, geralmente, é de cerca de 2.400 kcal/dia, devido à oferta insuficiente de alimentos ou por fatores ambientais e fisiológicos que levam a diminuição do apetite gerando um balanço energético negativo usual em operações militares que pode refletir diretamente sobre a composição e a massa corporal (Tharion, 2005).

No presente estudo, houve redução da massa corporal, da gordura corporal e preservação da massa livre de gordura após pratica do treinamento físico. Este resultado pode ter sido influenciado, pelo aumento do gasto energético gerado pelo exercício físico, somado a ingestão insuficiente observada durante o estudo, a qual, possivelmente, não atendeu a demanda. A perda da gordura corporal pode contribuir para o surgimento de consequências adversas, como *overtraining*, redução da *performance* e aumento de lesões tissulares (Purvis et al., 2010; Piirainen et al., 2008). Porém, não foram encontradas relações entre a composição corporal e os indicadores bioquímicos de lesão.

A lesão tecidual como consequência do forte treinamento físico militar foi identificada por diferentes autores (Johnston & Donham, 2012; Katzenell et al., 2012; Purim-Shem-Tov et al., 2013). A CK catalisa a transferência de um grupo fosfato entre a creatina fosfato e a adenosina difosfato tendo como produto a creatina e adenosina trifosfato. O cérebro, músculo liso, músculo cardíaco e esquelético são os principais tecidos que a contem (De Tommasi & Cusimano, 2013). Em militares americanos após treinamento de rotina foram observadas variação dos valores de CK de 34 a 35.056 U/L, os autores sugeriram que concentrações >50 vezes do valor basal seja considerado como valor de referencia para militares (Kenney et al, 2012). Elevadas concentrações séricas de CK em homens saudáveis podem estar correlacionadas com o condicionamento físico, a elevada concentração após

exercício prolongado pode perdurar por 24h, e de acordo com o período de descanso espera-se uma queda nos valores séricos de CK (Klapcińska et al, 2001). A persistência de valores elevados pode indicar a presença de estágios pré-clínicos de doença muscular (Brancaccio et al, 2007). No presente estudo, apesar dos valores elevados de CK, não houve diagnóstico clínico de rabdomiólise. Assim como esperado, após a marcha houve aumento significativo da concentração sérica e após todo treinamento militar o aumento percentual foi maior, sugerindo que a lesão muscular ocorre de forma constante ao longo da prova militar.

As aminotransferases ALT e AST são muito utilizadas na prática clínica, sendo a ALT encontrada principalmente no fígado, e em pequena concentração nos rins, coração, músculos e pâncreas, e a AST em maior concentração nos músculos e em menor no fígado (Banfi et al. 2012), podendo ser liberada dos músculos durante a prática de exercício (Gray et al., 2013). Na ausência de evidências de doença hepática, a razão AST/ALT poderá apontar para uma lesão aguda, ou em fase de recuperação, ou uma de lesão muscular crônica (Veropalumbo et al., 2012).

No presente estudo, no período inicial, a mediana de concentração da AST foi superior ao valor máximo de referência em 78% (n=68) dos participantes, indicando que esses indivíduos já iniciaram a marcha com uma possível lesão muscular. A ausência de um período de descanso adequado parece ter grande influência nos marcadores de lesão muscular e pode ser um potencial fator para o valor elevado da AST (Botros et al., 2013). Iniciar o treinamento com valores elevados de AST pode aumentar as chances de rabdomiólise e outras doenças musculares contrastando com a saúde dos participantes (Selden et al., 2009). Após todo o período do estudo a AST permaneceu elevada, sugerindo que mesmo após treinamento crônico não ocorre adaptação para redução da lesão muscular, semelhante ao ocorrido com a variação da CK. Encontramos o mesmo perfil para a lesão hepática, porém com menores percentuais de variação da ALT. A magnitude da lesão hepática pode ser classificada de acordo com o aumento sérico da ALT comparado com o valor de referência, durante o estudo os militares mostraram uma magnitude de lesão leve com valores de 1,2 vezes maior do que os valores de referência adotado (Botros & Sikaris, 2013).

A razão AST/ALT tem sido relacionada a diversas doenças, quando superior a 1,0 indica grau significativo de lesão muscular, podendo ser comparado a níveis patológicos (Botros & Sikaris 2013). Como a AST declina rapidamente do sangue

($t_{1/2}=18$ h) e a ALT ($t_{1/2}=36$ h) relativamente mais devagar (Weibrecht et al., 2010) estudos tem demonstrado que a razão AST/ALT está elevada em injúria aguda do músculo esquelético (Nathwani et al., 2005; Pettersson et al., 2008). No presente estudo, como esperado, desde o primeiro momento, os militares apresentaram valores da razão AST/ALT compatíveis com lesão muscular aguda.

O condicionamento físico pode ser fundamental para que não alcance níveis elevados das enzimas de marcadoras de lesão (Cunha et al., 2013; Cardoso et al., 2013). No presente estudo, foram observadas fracas relações negativas, porém significativas, entre o condicionamento físico (total de metros percorridos em 12 minutos) com a concentração sérica de ALT em T1 e T2, e com a concentração sérica de CK somente em T2, sugerindo que aqueles cadetes com melhor condicionamento físico foram os que apresentaram menor lesão hepática e muscular. Este resultado é coerente com o processo adaptativo que ocorre durante a fase do treinamento, o qual pode proteger os tecidos da lesão causada por agentes mecânicos ou metabólicos oriundos do exercício intenso.

2.5 Conclusão

Nossos resultados avaliados em conjunto, sugerem que o treinamento físico militar intenso é capaz de gerar lesão hepática e muscular com a mesma magnitude de condições patológicas e que o condicionamento aeróbio é importante como fator de adaptação protetor a essas lesões. O uso e a interpretação correta da concentração enzimática sérica por profissionais podem ser essenciais para o diagnóstico e prevenção de doenças decorrentes da prática indevida de atividade física, sendo de extrema importância a intensidade e o período de recuperação.

REFERÊNCIAS

Abraham A, Drory VE. Fatigue in motor neuron diseases. *Neuromuscul Disord.* 2012; 22 Suppl, S198-202. DOI: 10.1016/j.nmd.2012.10.013.

ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription (8th Edition), 2010.

Aizawa H, Morita K, Minami H, Sasaki N, Tobise K. Exertional rhabdomyolysis as a result of strenuous military training. *J Neurol Sci.* 1995; 132(2), 239-240.

American Dietetic Association. Joint Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: nutrition and athletic performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;100: 709-731.

Arena R, Myers J, Forman DE, Lavie CJ, Guazzi M. Should high-intensity-aerobic interval training become the clinical standard in heart failure? *Heart Fail Rev* 2013; 18: 95-105.

Armstrong LE, Maresh CM, Castellani JW, Bergeron MF, Kenefick RW, LaGasse KE, Riebe D. Urinary indices of hydration status. *Int J Sport Nutr.* 1994 Sep;4(3):265-79.

Banfi G, Morelli P. Relation between body mass index and serum aminotransferases concentrations in professional athletes. *J Sports Med Phys Fitness.* 2008 Jun;48(2):197-200.

Banfi G, Colombini A, Lombardi G, Lubkowska A. Metabolic markers in sports medicine. *Adv Clin Chem.* 2012;56:1-54.

Barbosa-Silva MCG, Barros AJD, Wang J, Heymsfield SB, and Pierson Jr RN. Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:49 –52.

Bijur PE, Horodyski M, Egerton W, Kurzton M, Lifrak S, Friedman S. Comparison of injury during cadet basic training by gender. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1997 May;151(5):456-61.

Bloomer RJ, Falvo MJ, Fry AC, Schilling BK, Smith WA, Moore CA. Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38(8):1436–42.

Bloomer RJ, Falvo MJ, Schilling BK, Smith WA. Prior exercise and antioxidant supplementation: effect on oxidative stress and muscle injury. *J Int Soc Sports Nutr.* 2007 Oct 3;4-9.

Botros M, Sikaris KA. The De Ritis Ratio: The Test of Time. *Clin Biochem Rev.* 2013; 34, 117-130.

Bowtell, JL, Sumners DP, Dyer A, Fox P, and Mileva KN. Montmorency cherry juice reduces muscle damage caused by intensive strength exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2011 Aug;43(8):1544-51.

Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British Medical Bulletin.* 2007; 81 and 82, 209–230. doi: 10.1093/bmb/ldm014.

Brancaccio P, Maffulli N, Buonauro R, Limongelli FM. Serum Enzyme Monitoring in Sports Medicine. *Clin Sports Med* 27 (2008) 1–18.

Brand-Willians, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, v. 22, p. 25-30, 1995.

Brigelius-Flohé R. Commentary: oxidative stress reconsidered. *Genes Nutr.* 2009 Sep;4(3):161-3. Epub 2009 Jul 16.

Bürger-Mendonça M, Bielavsky M, Barbosa FC. Liver overload in Brazilian triathletes after half-ironman competition is related muscle fatigue. *Ann Hepatol.* 2008; 7, 245-8.

Bullock SH, Jones BH, Gilchrist J, Marshall SW. Prevention of physical training-related injuries recommendations for the military and other active populations based on expedited systematic reviews. *Am J Prev Med.* 2010 Jan;38(1 Suppl): S156-81.

Cardoso AM, Martins CC, Fiorin Fda S, Schmatz R, Abdalla FH, Gutierrez J, Zanini D, Fiorenza AM, Stefanello N, Serres JD, Carvalho F, Castro VP, Mazzanti CM, Royes LF, Belló-Klein A, Goularte JF, Morsch VM, Bagatini MD, Schetinger MR. Physical training prevents oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats. *Cell Biochem Funct.* 2013; 31, 136-51. doi: 10.1002/cbf.2868.

Chrzczanowicz J, Gawron A, Zwolinska A, de Graft-Johnson J, Krajewski W, Krol M, Markowski J, Kostka T, Nowak D. Simple method for determining human serum 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity - possible application in clinical studies on dietary antioxidants. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(3):342-9.

Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002;81(Suppl):S52-S69.

Clarkson PM, Kearns AK, Rouzier P, Rubin R, Thompson PD. Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage. *Med Sci Sports Exerc.* 2006 Apr;38(4):623-7.

Committee on Optimization of Nutrient Composition of Military Rations for Short-term, High-stress Situations, Committee on Military Nutrition Research (CMNR). Nutrient

Composition of Rations for Short-Term, High-Intensity Combat Operations. ISBN: 0-309-54982-5, 462 pages, 6 x 9, (2005).

Cooper, KH. A means for assessing maximal oxygen intake: correlation between field and treadmill testing. *JAMA*. 1968; 203(3): 135-138.

Corsi MM, Massaccesi L, Dogliotti G, Vianello E, Agrifoglio M, Palumbo F, Goi G. O-beta-N-acetyl-D-glucosaminidase in erythrocytes of Italian air force acrobatic pilots. *Clin Chem Lab Med*. 2010; 48, 213-6. doi: 10.1515/CCLM.2010.051.

Cruzat VF, Rogero MM, Borges MC, Tirapegui J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Rev Bras Med Esporte*. 2007; Vol. 13, Nº 5 – Set /Out.

Cunha MJ, da Cunha AA, Ferreira GK, Baladão ME, Savio LE, Reichel CL, Kessler A, Netto CA, Wyse AT. The effect of exercise on the oxidative stress induced by experimental lung injury. *Life Sci*. 2013; 27;92(3):218-27.

Davison G, Gleeson M. The effects of acute vitamin C supplementation on cortisol, interleukin-6, and neutrophil responses to prolonged cycling exercise. *Eur J Sports Sci*. 2007; 7:15–25.

Davison G, Callister R, Williamson G, Cooper AK, Gleeson M. The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. *Eur J Nutr*. 2012 Feb;51(1):69-79. Epub 2011 Apr 5.

De Tommasi C, Cusimano MD. Rhabdomyolysis after neurosurgery: a review and a framework for prevention. *Neurosurg Rev*. 2013; 36(2):195-202.

Gomes EC, Silva AN, Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2012, Article ID 756132, 12 pages.

Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab*. 2013 Feb 5;17(2):162-84.

Farney TM, McCarthy CG, Canale RE, Schilling BK, Whitehead PN, Bloomer RJ. Absence of blood oxidative stress in trained men following strenuous exercise. *Med Sci Sports Exerc*. Apr 19 Publish Ahead of Print, 2012.

Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med*. 2006; 36(4): 327-58.

Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine* 2009, 8:1. Available from: <http://www.dynamic-med.com/content/8/1/1>.

Foschini D, Prestes J, Charro MA. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. *Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum.* 2007;9(1):101-106.

Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, Nieman DC, Swain DP; American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2011 Jul;43(7):1334-59.

Godycki-Cwirko M, Krol M, Krol B, Zwolinska A, Kolodziejczyk K, Kasielski M, Padula G, Grebowski J, Kazmierska P, Miatkowski M, Markowski J, Nowak D. Uric acid but not apple polyphenols is responsible for the rise of plasma antioxidant activity after apple juice consumption in healthy subjects. *J Am Coll Nutr.* 2010 Aug;29(4):397-406.

Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:756132.

Gomez-Cabrera MC, Borrás C, Pallardó FV, Sastre J, Ji LL, Viña J. Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J Physiol.* 2005 Aug; 15;567(Pt 1):113-20.

Gray B, Muhlhausler BS, Davies PS, Vitetta L. Liver enzymes but not free fatty acid levels predict markers of insulin sensitivity in overweight and obese, nondiabetic adults. *Nutr Res.* 2013 Oct;33(10):781-8.

Hain R, Reif HJ, Krause E, Langebartels R, Kindl H, Vornam B et al. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature.* 1993;361:153-6.

Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radical in biology and medicine.* 3rd ed. New York: Oxford University Press; 1999.

Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford, UK: Oxford University Press; 2007.

Hammouda O, Chtourou H, Chaouachi A, Chahed H, Ferchichi S, Kallel C, Chamari K, Souissi N. Effect of short-term maximal exercise on biochemical markers of muscle damage, total antioxidant status, and homocysteine levels in football players. *Asian J Sports Med.* 2012; 3(4):239-46.

Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the

American Heart Association. *Circulation*, 2007; Aug 28;116(9):1081-93. Epub 2007 Aug 1.

Hauret KG, Jones BH, Bullock SH, Canham-Chervak M, Canada S. Musculoskeletal injuries description of an under-recognized injury problem among military personnel. *Am J Prev Med*. 2010 Jan;38(1 Suppl):S61-70. doi: 10.1016/j.amepre.2009.10.021.

Helers GG, Ball TE, Liston L. Creatine kinase levels are elevated during 2-A-day practices in collegiate football players. *Athletic Training* 2002; 37: 151–156.

Hoffman MD, Krishnan E. Health and exercise-related medical issues among 1,212 ultramarathon runners: baseline findings from the Ultrarunners Longitudinal TRacking (ULTRA) Study. *PLoS One*. 2014 Jan 8;9(1):e83867. doi: 10.1371/journal.pone.0083867. eCollection 2014.

Howatson G, McHugh MP, Hill JA, et al. Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. *Scand J Med Sci Sports Exerc*. 2010;20:843–52.

Hudson MB, Hosick PA, McCaulley GO, et al. The effect of resistance exercise on humoral markers of oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*. 2008;40(3):542–8.

Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research. *Military Strategies for Sustainment of Nutrition and Immune Function in the Field*. Washington (DC): National Academies Press (US); 1999.

Jackson, AS, Pollock, ML. Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr*, 40(3): 497-504; 1978.

Johnston J, Donham B. Exertional heat stroke: clinical significance and practice indications for special operations medics and providers. *J Spec Oper Med*. 2012; 12(2):1-7.

Kanter M. Free radicals and exercise: effects of nutritional antioxidant supplementation. *Exerc Sport Sci Rev*. 1995; 23: 375–397.

Katzenell U, Ash N, Tapia AL, Campino GA, Glassberg E. Analysis of the causes of death of casualties in field military setting. *Mil Med*. 2012; 177(9):1065-8.

Kemi OJ, Wisloff U. High-intensity aerobic exercise training improves the heart in health and disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2010 Jan-Feb;30(1):2-11.

Kenney K, Landau ME, Gonzalez RS, Hundertmark J, O'Brien K, Campbell WW. Serum creatine kinase after exercise: drawing the line between physiological response and exertional rhabdomyolysis. *Muscle Nerve* 2012; 45: 356-362.

Kim KS, Paik IY, Woo JH, Kang BY. The effect of training type on oxidative DNA damage and antioxidant capacity during three-dimensional space exercise. *Med Princ Pract.* 2010;19(2):133-41.

Klapcińska B, Iskra J, Poprzecki S, Grzesiok K. The effects of sprint (300 m) running on plasma lactate, uric acid, creatine kinase and lactate dehydrogenase in competitive hurdlers and untrained men. *J Sports Med Phys Fitness.* 2001 Sep;41(3):306-11.

Knapik JJ, Reynolds KL, Harman E. Soldier load carriage: historical, physiological, biomechanical, and medical aspects. *Mil Med.* 2004 Jan;169(1):45-56.

Knapik JJ, Graham B, Cobbs J, Thompson D, Steelman R, Jones BH. A prospective investigation of injury incidence and risk factors among army recruits in combat engineer training. *J Occup Med Toxicol.* 2013 Mar 5;8(1):5.

Koch AJ, Pereira R, Machado M. The creatine kinase response to resistance exercise. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2014 Mar;14(1):68-77.

Koury JC, de Olilveria AV Jr, Portella ES, de Oliveira CF, Lopes GC, Donangelo CM. Zinc and copper biochemical indices of antioxidant status in elite athletes of different modalities. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2004;14(3):358-72.

Kruk J. Physical activity and health. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2009;10(5):721-8.

Landau ME, Kenney K, Deuster P, Gonzalez RS, Contreras-Sesvold C, Sambuughin N, O'Connor FG, Campbell WW. Investigation of the relationship between serum creatine kinase and genetic polymorphisms in military recruits. *Mil Med.* 2012 Nov;177(11):1359-65.

Lastayo, PC et al. Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sport. *Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, [S.l.], v.33, n.10, p.557-571, 2003.

Lazarim FL, Antunes-Neto JM, da Silva FO, Nunes LA, Bassini-Cameron A, Cameron LC, Alves AA, Brenzikofer R, de Macedo DV. The upper values of plasma creatine kinase of professional soccer players during the Brazilian National Championship. *J Sci Med Sport.* 2007 Jan;12(1):85-90.

Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am J Physiol.* 1997 Jan;272(1 Pt 2):R363-9.

Leite HP, Sarni RS. Radicais livres, anti-oxidantes e nutrição. *Rev Bras Nutr Clin* 2003; 18 (2):87-94.

Lehninger AL. *Princípios de Bioquímica.* 4ª Ed. São Paulo, Sarvier, 2006.

Li X, Huang WX, Lu JM, Yang G, Ma FL, Lan YT, Meng JH, Dou JT. Effects of a multivitamin/multimineral supplement on young males with physical overtraining: a placebo-controlled, randomized, double-blinded cross-over trial. *Biomed Environ Sci*. 2013 Jul;26(7):599-604

Machefer G, Groussard C, Vincent S, Zouhal H, Faure H, Cillard J, Radák Z, Gratas-Delamarche A. Multivitamin-mineral supplementation prevents lipid peroxidation during "the Marathon des Sables". *J Am Coll Nutr*. 2007 Apr;26(2):111-20.

Makras P, Koukoulis GN, Bourikas G, Papatheodorou G, Bedevis K, Menounos P et al. Effect of 4 weeks of basic military training on peripheral blood leucocytes and urinary excretion of catecholamines and cortisol. *J Sports Sci*. 2005; 23(8), 825-834.

Malm C, Lenkei R, Sjödin B. Effects of eccentric exercise on the immune system in men. *J Appl Physiol*, 1999; 86:461-468.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79(5):727-47.

Manach C, Mazur A, Scalbert A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Curr Opin Lipidol*. 2005 Feb;16(1):77-84.

Margaritis I, Tessier F, Richard MJ, Marconnet P. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int J Sports Med*. 1997 Apr;18(3):186-90.

Martim ECO, Pinto CF, Watanabe M, Vattimo MFF. Lesão renal aguda por glicerol: efeito antioxidante da *Vitis vinifera* L. *Rev. bras. ter. intensiva* 2007 July/Sept ; vol.19 no.3.

Mayhew DL, Thyfault JP, Koch AJ. Rest-interval length affects leukocyte levels during heavy resistance exercise. *J Strength Cond Res*. 2005 Feb;19(1):16-22.

McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Quindry JC, Hosick PA, Hudson MH, Still L, Henson DA, Milne GL, Morrow JD, Dumke CL, Utter AC, Triplett NT, Dibarnardi A. Chronic quercetin ingestion and exercise-induced oxidative damage and inflammation. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008 Apr;33(2):254-62.

McAnulty SR, Nieman DC, McAnulty LS, Lynch WS, Jin F, Henson DA. Effect of mixed flavonoids, n-3 fatty acids, and vitamin C on oxidative stress and antioxidant capacity before and after intense cycling. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2011 Aug;21(4):328-37.

Miyamoto N, Wakahara T, Ema R, Kawakami Y. Further potentiation of dynamic muscle strength after resistance training. *Med Sci Sports Exerc*. 2013; 45(7):1323-30.

Molloy JM, Feltwell DN, Scott SJ, Niebuhr DW. Physical training injuries and interventions for military recruits. *Mil Med.* 2012 May;177(5):553-8.

Morillas-Ruiz JM, Villegas García J, López FJ, Vidal-Guevara ML, Zafrilla P Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clin Nutr.* 2006; 25:444–453.

Mougios V. Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med* 2007;41:674–678.

Nathwani RA, Pais S, Reynolds TB, Kaplowitz N. Serum alanine aminotransferase in skeletal muscle diseases. *Hepatology.* 2005;41:380–2.

Neubauer O, Reichhold S, Nersesyan A, König D, Wagner KH. Exercise-induced DNA damage: is there a relationship with inflammatory responses? *Exerc Immunol Rev.* 2008;14:51-72.

Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty L, Swick NS, Utter AC, Vinci DM, Opiela SJ, Morrow JD. Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol.* 2002; 92:1970–1977.

Nieman DC, Henson DA, McAnulty S, McAnulty L, Swick N, Utter A, et al. Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol* 2002;92: 1970–7.

Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty LS, Morrow JD, Ahmed A, Heward CB. Vitamin E and immunity after the Kona Triathlon World Championship. *Med Sci Sports Exerc.* 2004; 36(8):1328–1335.

Nieman DC, Henson DA, Davis JM, Angela Murphy E, Jenkins DP, Gross SJ, Carmichael MD, Quindry JC, Dumke CL, Utter AC, McAnulty SR, McAnulty LS, Triplett NT, Mayer EP. Quercetin's influence on exercise-induced changes in plasma cytokines and muscle and leukocyte cytokine mRNA. *J Appl Physiol.* 2007 Nov;103(5):1728-35. Epub 2007 Aug 23.

Nikolaidis MG, Paschalis V, Giakas G, Fatouros IG, Koutedakis Y, Kouretas D, Jamurtas AZ. Decreased blood oxidative stress after repeated muscle-damaging exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 2007 July; 39(7): 1080-89.

Nindl BC, Rarick KR, Castellani JW, Tuckow AP, Patton JF, Young AJ, Montain SJ. Altered secretion of growth hormone and luteinizing hormone after 84 h of sustained physical exertion superimposed on caloric and sleep restriction. *J Appl Physiol* (1985). 2006 Jan;100(1):120-8.

Nindl, BC, Barnes BR, Alemany JA, Frykman PN, Shippee RL, FRIEDL KE. Physiological Consequences of U.S. Army Ranger Training. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2007 39 (8):1380–1387.

Nindl BC, Castellani JW, Warr BJ, Sharp MA, Henning PC, Spiering BA, Scofield DE. Physiological Employment Standards III: physiological challenges and consequences encountered during international military deployments. *Eur J Appl Physiol*. 2013 Nov;113(11):2655-72. Epub 2013 Feb 22.

Nottle C, Nosaka K. The magnitude of muscle damage induced by downhill backward walking. *J Sci Med Sport*. 2005 Sep;8(3):264-73.

Nytrøen K, Gullestad L. Exercise after heart transplantation: An overview. *World J Transplant*. 2013 Dec 24;3(4):78-90.

Peake JM, Suzuki K, Coombes JS. The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. *J Nutr Biochem*. 2007 Jun;18(6):357-71.

Pettersson J, Hindorf U, Persson P, Bengtsson T, Malmqvist U, Werkström V, et al. Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;65:253–9.

Petry ÉR, Alvarenga ML, Cruzat VF, Tirapegui J. Exercício físico e estresse oxidativo: mecanismos e efeitos. *R. bras. Ci. e Mov* 2010;18(4):90-99.

Piirainen JM, Salmi JA, Avela J, Linnamo V. Effect of body composition on the neuromuscular function of Finnish conscripts during an 8-week basic training period. *J Strength Cond Res*. 2008;22(6):1916-25.

Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 88: 1243–1276, 2008.

Powers SK, Talbert EE, Adhietty PJ. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *J Physiol*. 2011 May 1;589(Pt 9):2129-38. Epub 2011 Jan 4.

Prasad DS, Das BC. Physical inactivity : A cardiovascular risk factor. *Indian J Med Sci*, 2009; 63:33-42.

Purim-Shem-Tov YA, Ansari SN, Ward EJ, Carizey R, Rumoro DP, Bayram JD. The Rush University advanced trauma training program, a novel approach for military trauma training. *Mil Med*. 2013; 178(3):362-6.

Purvis D, Gonsalves S, Deuster PA. Physiological and psychological fatigue in extreme conditions: overtraining and elite athletes. *PM R*. 2010; 2(5):442-50.

Reid MB. Redox Modulation of skeletal muscle contraction by reactive oxygen and nitric oxide. In: *Biochemistry of exercise*. Champaign: Human Kinetics, 1999. P155.

Rietjens SJ, Beelen M, Koopman R, Van Loon LJC, Bast A, Haenen GRMM. A single session of resistance exercise induces oxidative damage in untrained men. *Med Sci Sports Exerc.* 2007; 39(12):2145–51.

Rognmo Ø, Hetland E, Helgerud J, Hoff J, Slørdahl SA. High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2004; 11: 216-222.

Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr.* 2002; 22:19-34.

Sacher RA & McPherson RA. Hematologia. In: Sacher RA. & McPherson R. (eds). *Interpretação Clínica dos Exames Laboratoriais.* São Paulo, 2002: 431-441.

Sattelmair J, Pertman J, Ding EL, Kohl HW 3rd, Haskell W, Lee IM. Dose response between physical activity and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Circulation.* 2011 Aug 16;124(7):789-95. Epub 2011 Aug 1.

Schneider CD, Oliveira AR. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte.* 2004 Jul/Ago; 10 (4):308-13.

Seeram NP, Adams LS, Hardy ML, Heber D. Total cranberry extract versus its phytochemical constituents: antiproliferative and synergistic effects against human tumor cell lines. *J Agric Food Chem.* 2004 May 5;52(9):2512-7.

Selden MA, Helzberg JH, Waeckerle JF, Browne JE, Brewer JH, Monaco ME, Tang F, O'Keefe JH. Elevated alanine aminotransferase in current national football league players: correlation with cardiometabolic syndrome markers, obesity and insulin resistance. *South Med J.* 2009;102(10):1003-6.

Siri, WE. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. In: *Techniques for Measuring Body Composition*, edited by J. Brozek, and A. Henschel. Washington, DC: Natl. Acad. Sci. Natl. Res. Council. 1961; pp. 223-224

Skenderi KP, Kavouras SA, Anastasiou CA, Yiannakouris N, Matalas AL. Exertional Rhabdomyolysis during a 246-km continuous running race. *Med Sci Sports Exerc.* 2006 Jun;38(6):1054-7.

Smith LL. Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome? *J Strength Cond Res.* 2004 Feb;18(1): 185-93.

Starling, RD. Use of doubly labeled water and indirect calorimetry to assess physical activity. In: *Physical Activity Assessments for health-related research.* Welk, GJ (editor). Champaign, IL: Human Kinetics. 2002; pp. 197-209.

Suhr F, Gehlert S, Grau M, Bloch W. Skeletal Muscle Function during Exercise-Fine-Tuning of Diverse Subsystems by Nitric Oxide. *Int J Mol Sci.* 2013 Mar 28;14(4):7109-39.

Sureda A, Tauler P, Aguiló A, Cases N, Llompарт I, Tur JA, Pons A. Influence of an antioxidant vitamin-enriched drink on pre- and post-exercise lymphocyte antioxidant system. *Ann Nutr Metab.* 2008;52:233-240.

Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Totsuka M, Sato K, Sugawara K. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. *Cytokine kinetics. Exerc Immunol Rev.* 2002;8:6-48.

Swain DP, Franklin BA. Comparison of cardioprotective benefits of vigorous versus moderate intensity aerobic exercise. *Am J Cardiol.* 2006 Jan 1; 97(1): 141-7. Epub 2005 Nov 16.

Tanskanen, MM, Uusitalo AL, Kinnunen H, Hakkinen K, Kyrolainen H, and Atalay M. Association of Military Training with Oxidative Stress and Overreaching. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2011; 43 (8): 1552–1560.

Tee JC, Bosch AN, Lambert MI. Metabolic consequences of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 2007;37(10):827-36.

Tharion WJ, Lieberman HR, Montain SJ, Young AJ, Baker-Fulco CJ, Delany JP, Hoyt RW. Energy requirements of military personnel. *Appetite* 2005;44(1):47-65.

Urso ML & Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41–54.

U.S. Departments of the Army, Navy, and Air Force. Nutrition standards and education. Washington, DC: U.S. Department of Defense Headquarters; 2001.

Veropalumbo C, Del Giudice E, Esposito G, Maddaluno S, Ruggiero L, Vajro P. Aminotransferases and muscular diseases: a disregarded lesson. Case reports and review of the literature. *J Paediatr Child Health.* 2012;48:886–90.

Vázquez-Medina JP, Zenteno-Savín T, Elsner R, Ortiz RM. Coping with physiological oxidative stress: a review of antioxidant strategies in seals. *J Comp Physiol B.* 2012 Aug;182(6):741-50.

Veskoukis AS, Nikolaidis MG, Kyparos A, Kouretas D. Blood reflects tissue oxidative stress depending on biomarker and tissue studied. *Free Radic Biol Med.* 2009;47:1371–4.

Vollaard NB, Shearman JP, Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Med.* 2005;35(12):1045-62.

Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, Fleshner M, Green C, Pedersen BK, Hoffman-Goetz L, Rogers CJ, Northoff H, Abbasi A, Simon P. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2011;17:6-63.

Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J.* Jan 1, 1992; 281(Pt 1): 21–40.

Weibrecht K, Dayno M, Darling C, Bird SB. Liver aminotransferases are elevated with rhabdomyolysis in the absence of significant liver injury. *J Med Toxicol.* 2010;6:294–300.

Wells GD, O'Gorman CS, Rayner T, Caterini J, Thompson S, Bradley T, Hamilton J. Skeletal muscle abnormalities in girls and adolescents with turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(6):2521-7.

Williams A, Rayson MP, Jones DA. Training diagnosis for a load carriage task. *Journal of Strength and Conditioning Research,* 2004, 18(1), 30–34

Weir JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol.* 1949 Aug; 109(1-2):1-9.

Wilkinson DM, Blacker SD, Richmond VL, Horner FE, Rayson MP, Spiess A, Knapik JJ. Injuries and injury risk factors among British army infantry soldiers during predeployment training. *Inj Prev.* 2011 Dec;17(6):381-7. doi: 10.1136/ip.2010.028233. Epub 2011 Apr 19.

Wisløff U, Støylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognum Ø, Haram PM, Tjønnå AE, Helgerud J, Slørdahl SA, Lee SJ, Videm V, Bye A, Smith GL, Najjar SM, Ellingsen Ø, Skjaerpe T. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation* 2007; 115: 3086-3094

Zoppi CC, Antunes-Neto J, Castanho FO, Goulart LF, Motta e Moura N, Macedo DV. Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. *Rev. Paul. Educ. Fís.* 2003 jul/dez; 17(2): 119-30.

ANEXO A – Sequência das atividades

Período	Domingo	3ª feira	4ª feira	5ª feira	6ª feira	Sábado
Manhã	Avaliação de Potência de MMII	Coleta de sangue e antropometria	Coleta de urina	Coleta de urina	Coleta de urina Marcha Fim da Prova	Coleta de sangue e antropometria
Tarde	Avaliação de Potência de MMII					
Noite		Coleta de urina Início da Prova Marcha	Coleta de urina	Coleta de urina		

□ - Prova Asp Mega

ANEXO B - Instrumentos utilizados

- ✓ Frequencímetro Polar Rs 800[®]
- ✓ Refratômetro Laica[®]
- ✓ Analisador de Bioquímica Chiron Express Plus[®]
- ✓ Adipômetro Cescor[®]
- ✓ Balança Filizzolla[®]
- ✓ Plataforma de força bipodal Cefise[®]
- ✓ Registro de ingestão alimentar