

MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO E CULTURA DO EXÉRCITO
CENTRO DE CAPACITAÇÃO FÍSICA DO EXÉRCITO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA DO EXÉRCITO

CURSO DE INSTRUTOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA

ALUNO: Daniel Parada **Theodoro** – 1º TEN

ORIENTADOR: **Marcio** Antonio de Barros Sena - ST

EFEITO AGUDO DA REALIZAÇÃO DA PISTA DE PENTATLO MILITAR
SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM MILITARES.

ALUNO: Daniel Parada **Theodoro** – 1º TEN

EFEITO AGUDO DA REALIZAÇÃO DA PISTA DE PENTATLO MILITAR
SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM MILITARES.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial
para conclusão da graduação em Educação Física na Escola de
Educação Física do Exército.

ORIENTADOR: **Marcio** Antonio de Barros Sena - ST

Rio de Janeiro – RJ
2022

MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO E CULTURA DO EXÉRCITO
CENTRO DE CAPACITAÇÃO FÍSICA DO EXÉRCITO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA DO EXÉRCITO

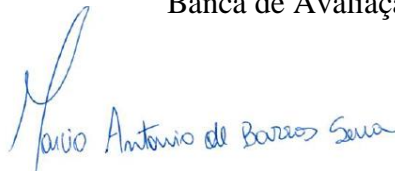
ALUNO: Daniel Parada **Theodoro** – 1º TEN

TÍTULO: EFEITO AGUDO DA REALIZAÇÃO DA PISTA DE PENTATLO MILITAR
SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM MILITARES.

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aprovado em 23 de novembro de 2022

Banca de Avaliação



Marcio Antonio de Barros Sena - ST
Avaliador



Mirian Raquel Meira Mainenti
Avaliador



Adriane Mara de Souza Muniz
Avaliador

RESUMO

INTRODUÇÃO: A pista de pentatlo militar (PPM) é uma modalidade de treinamento que consiste em movimentos que simulam aqueles encontrados no campo de batalha. No entanto, a sua realização induz um grande desgaste físico, contribuindo para a instalação de um quadro de estresse oxidativo (EO) no organismo. **OBJETIVO:** Analisar os efeitos agudos da realização da PPM sobre os biomarcadores de EO em atletas de pentatlo militar. **MÉTODOS:** Participaram do estudo 09 atletas de pentatlo militar, do sexo masculino ($26,4 \pm 3,1$ anos) e 07 do sexo feminino ($26,1 \pm 4,4$ anos), da delegação de atletas da seleção brasileira de pentatlo militar. A amostra sanguínea foi obtida em três momentos: basal (T1), imediatamente após (T2) e após 20h de recuperação (T3), para análise dos seguintes biomarcadores: Peroxidação lipídica (PL), proteína carbonilada (PC), ácido úrico (AU), magnésio (Mg), grupamentos sulfidrila (GS) totais, e atividade antioxidante total (AAT). A normalidade dos dados foi comprovada pelo teste de *Shapiro-Wilk*, assim, na estatística descritiva, utilizou-se a média e o desvio padrão e na inferencial, foi utilizada uma ANOVA de medidas repetidas, com *post hoc* de Bonferroni e O teste de Friedman e *post hoc* de Dunn's ($p \leq 0,05$). **RESULTADOS:** Os homens apresentaram um aumento nos níveis de PL, PC, AU, Mg e AAT em T2 vs. T1, com redução significativa do Mg e AAT em T3 vs. T2. A PL, AU e o Mg aumentaram em T3 vs. T1. Não foi observada alteração nos níveis de GS totais. As mulheres tiveram aumento na PC, AU, GS totais e AAT em T2 vs. T1, com redução da PC, AU e AAT em T3 vs. T2. A PL e a PC aumentaram em T3 vs. T1, enquanto a PL aumentou em T3 vs. T2, o que não era o esperado. O Mg reduziu em T2 e T3 vs. T1. **CONCLUSÃO:** A prova de PPM induziu danos oxidativos e foi capaz de ativar o sistema antioxidante. O tempo de recuperação nas mulheres não foi suficiente para restauração das membranas celulares (PL).

Palavras-chaves: clivagem oxidativa, dano oxidativo, lesão oxidativa, militar.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The military obstacle run (PPM) is a training modality that consists of movements that simulate those found on the battlefield. However, its realization induces a great physical wear, for the installation of an oxidative stress (EO) in the organism. **OBJECTIVE:** To analyze the acute effects of performing PPM on EO biomarkers in military pentathlon athletes. **METHODS:** 09 male (26.4 ± 3.1 years old) and 07 female (26.1 ± 4.4 years old) of the delegation of athletes from the Brazilian military pentathlon team participated in the study. The blood sample analysis was performed at three times: baseline (T1), and immediately after (T2) 20h of recovery (T3), for the following biomarkers: Peroxid lipid (PL), carbonyl protein (PC), uric acid (AU), and total antioxidant activity (AAT). The normality of the data was confirmed by the Shapiro-Wilk test, thus, in the descriptive statistics, the mean and the standard and inferential deviation were used, an ANOVA of repeated measures was used, with Bonferroni's post hoc and Friedman's test and Dunn's post hoc ($p \leq 0.05$). **RESULTS:** Men showed an increase in PL, PC, AU, Mg and AAT levels at T2 vs. T1, with significant reduction in Mg and AAT at T3 vs. T2. PL, AU and Mg increased in T3 vs. T1. No change in total GS levels was observed. Women had an increase in PC, AU, total GS and AAT at T2 vs. T1, with reduced PC, AU and AAT in T3 vs. T2. PL and PC increased in T3 vs. T1, while PL increased in T3 vs. T, which was not expected. Mg reduced in T2 and T3. **CONCLUSION:** The PPM test induced oxidative damage and was able to activate the antioxidant system. The recovery time in women was not sufficient for the restoration of cell membranes (PL).

Keywords: oxidative stress, military pentathlon, redox metabolism, military.

INTRODUÇÃO

A prática regular de exercício físico (EF) moderado está associada com diversos benefícios para saúde, tais como: redução no risco do desenvolvimento do câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças crônicas, contribuindo para a melhora da qualidade de vida e maior longevidade dos seres humanos (1). Entretanto, quando o EF é realizado de forma intensa e prolongada, ele induz a um aumento da demanda energética aguda e do consumo de oxigênio (O_2), tendo como consequência uma maior produção de espécies reativas de oxigênio/nitrogênio (EROs/ERNs, respectivamente), favorecendo a instalação de um quadro de estresse oxidativo (EO) no organismo(2,3).

O EO consiste no desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes (EROs e ERNs) e o sistema de defesa antioxidante do indivíduo, no qual os compostos oxidantes predominam (4). Os efeitos causados pelo EO são o comprometimento do controle e da sinalização redox e/ou danos moleculares, incluindo na membrana plasmática, proteínas e no ácido desoxirribonucléico (DNA), bem como alterações fisiológicas e bioquímicas, como alterações nas estruturas dos miofilamentos que causam dor e fadiga muscular, que em níveis adequados são necessários para gerar adaptações orgânicas positivas no organismo. Essas situações clínicas influenciam diretamente no desempenho e abandono dos treinamentos físicos (5,6,7).

As EROs podem ser produzidas por diversas fontes, tais como: mitocôndria, células do sistema imune e através do mecanismo de isquemia e reperfusão, sendo as moléculas mais relevantes o radical hidroxila ($\cdot OH$), ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2)(8). Nesse cenário, destaca-se a enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase como uma das principais fontes produtoras das EROs durante a contração muscular, especialmente o $O_2^{\cdot -}$ e o H_2O_2 (9)(10). As ERNs contribuem para formação do ânion peroxinitrito ($ONOO^-$), que tem a sua origem através da reação do radical livre óxido nítrico ($NO\cdot$) com $O_2^{\cdot -}$ (8). O $ONOO^-$ provoca danos no endotélio, induzindo a formação da placa de ateroma e o desenvolvimento de doenças cardíacas e renais crônicas(11,12).

A observação no soro de biomarcadores específicos de danos oxidativos se deu sobre a peroxidação lipídica (PL), proteína carbonilada (PC), grupamentos sulfidril total (GS totais), atividade antioxidante total (AAT) e dos biomarcadores clínicos: ácido úrico (AU) e magnésio (Mg), que se manifestam como formas de se investigar e avaliar as consequências do EO no organismo(4,13,14).

Apresentado ainda os conceitos do estudo, faz-se necessário a compreensão do esporte Pentatlo Militar, que consiste numa modalidade de exercícios físicos intensos e sua organização consiste em cinco provas, que são realizadas na seguinte ordem: 20 tiros de fuzil à 200 ou 300m (10 tiros em 10 minutos e 10 tiros em 1 minuto), pista de pentatlo militar (PPM) (pista de 500 m

com 20 obstáculos para os homens; as mulheres deixam de realizar os obstáculos que envolvem grandes quedas, realizando assim, 16 obstáculos), natação utilitária (pista de 50 m com 4 obstáculos), lançamento de granadas (lançamento de 16 granadas em precisão nas distâncias de 20m, 25m, 30m e 35m, sendo 4 granadas em cada setor, e lançamento de 3 granadas em distância máxima) e corrida através campo (4 km para mulheres e 8 km para os homens)(15).

Cabe ressaltar que, para transpor os obstáculos da PPM, é preciso correr, saltar, cair, abaixar, engatinhar e escalar. Estes movimentos simulam aqueles que o militar encontrará no campo de batalha, assim, a prática da PPM é uma oportunidade de treinamento que deixa esse profissional mais preparado para progredir no terreno em meio aos diversos ambientes da guerra (15,16). Diante do exposto, torna-se plausível creditar que a realização da PPM induza a um grande desgaste físico, contribuindo assim para o aumento do consumo de oxigênio, deixando os atletas suscetíveis a instalação de um quadro de EO(4,7).

Convém destacar que os militares fazem parte de um grupo específico da sociedade, que devem possuir uma boa higidez física, pois devem estar preparados para serem empregados no combate a qualquer momento, e ainda que a amostra analisada é de atletas da delegação de atletas da seleção brasileira de pentatlo militar(17,18,19). Nesse sentido, esses profissionais realizam diversos tipos de treinamentos físicos ao longo da carreira, visando à obtenção de uma boa resistência física, que permite a manutenção do condicionamento físico exigido no campo de batalha(20,21). Assim, estudos que possibilitem a compreensão do comportamento do metabolismo redox em indivíduos submetidos a uma grande exigência física, tornando-se necessários, na finalidade de se obter descobertas que possibilitem atenuar os danos induzidos pelo EO neste tipo de cenário, possibilitando melhoras no desenvolvimento do treinamento de militares.

O esclarecimento por meio da verificação dos efeitos do EO após a realização do percurso de uma PPM, contribui para entender a influência negativa da ação das EROs geradas durante a prática de exercícios físicos intensos(2,3), tal conhecimento ainda não foi abordado por nenhuma pesquisa publicada nos motores de buscas de biomedicina e saúde PubMed, Scielo, Scopus e Google Scholar, tornando este estudo o pioneiro, pois os estudos existentes que analisaram os efeitos da PPM, buscaram marcadores indiretos de lesão celular bem como metabólitos gerados pelo desgaste físico gerado, como CK, LDH e Lactato respectivamente (22)(23).

Os resultados obtidos permitirão ao treinador, juntamente com uma equipe multidisciplinar, adotarem estratégias que venham a reduzir os danos metabólicos, tanto durante a prática da PPM quanto dos outros três exercícios, que são realizados após a PPM durante a

competição, contribuindo com a melhora do desempenho físico durante essas provas. Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo analisar os efeitos agudos da realização da PPM sobre os biomarcadores de EO em atletas de pentatlo militar.

MÉTODOS

Desenho do estudo, amostra e aspectos éticos

A presente pesquisa caracteriza-se por ser estudo observacional analítico transversal, que cuja amostra será constituída por 09 militares do sexo masculino ($26,4 \pm 3,1$ anos) e 07 militares do sexo feminino ($26,1 \pm 4,4$ anos), atletas de pentatlo militar, que fazem parte da elite do esporte, oriundos de diversas organizações militares e que compõe a delegação de atletas da seleção brasileira de pentatlo militar.

O presente trabalho atende às Normas para a Realização de Pesquisa em Seres Humanos, Resolução 510/12, do Conselho Nacional de Saúde de 07/04/2016 e a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 306/2004 – ANVISA para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A) relata o objetivo do estudo, procedimentos de avaliação, caráter de voluntariedade da participação do sujeito e isenção de responsabilidade por parte do avaliador e da Instituição e foi assinado pelos voluntários do estudo. O estudo teve seu projeto de pesquisa avaliado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), sendo encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEP) do Hospital Naval Marcílio Dias.

Os critérios para inclusão dos atletas foram: a) ambos os sexos, b) fazerem parte de uma equipe de treinamento; c) alcançarem índice igual ou superior a 1000 pontos de pentatlo, ou seja, obtiverem um tempo de performance igual ou inferior a 2min 40seg na prova de PPM. Foram excluídos da amostra os atletas que: a) estivessem realizando treinamento supervisionado pela comissão técnica; b) atletas com quaisquer lesões osteoarticulares ou musculoesqueléticas e outros quadros clínicos que os impedissem de realizar os exercícios. Assim como, pudessem interferir em alguma das avaliações que limitassem movimentos ou que estivessem sob tratamentos médicos restritivos; c) atletas que estivessem fazendo uso de qualquer substância, ou fármaco, capaz de alterar as análises de sangue; d) que não pudessem comparecer à todas as etapas da coleta de dados.

Procedimentos de coleta de dados

A coleta dos dados foi realizada no Laboratório de Biociências da Escola de Educação Física do Exército (EsEFEx), localizado na avenida João Luiz Alves, S/N – Urca; e no 26º Batalhão de Infantaria Paraquedista (medidas antropométricas e coletas de sangue, respectivamente), localizado na Avenida General Benedito da Silveira, 1339 - Vila Militar, ambos os locais se encontram localizados na cidade do Rio de Janeiro.

Foi realizada uma intervenção aguda, por meio de coletas de sangue, que ocorreram em três momentos: basal (T1), imediatamente após o fim da prova (T2) e após 20h de recuperação (T3). Os militares avaliados foram recomendados a não fazerem uso de suplementos vitamínicos, alimentos e/ou bebidas que contenham alto teor de antioxidantes uma semana antes da coleta de sangue, bem como não praticarem atividade física de alta intensidade no dia anterior. Os procedimentos das fases pré-analítica, analítica e pós-analítica seguiram as orientações contidas no manual de boas práticas em laboratório clínico recomendadas pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial(22,23,24).

Para realização das análises laboratoriais de bioquímica foram utilizados tubos a vácuo de 8 mL, contendo gel separador sem anticoagulante (Vacuplast Collect Line, Nanchang, Jiangxi, China). As coletas sanguíneas foram realizadas por meio de punção venosa periférica, na região ante cubital utilizando sistema a vácuo. Imediatamente após as coletas, o sangue foi centrifugado por 10 minutos a 3.000 rotações por minuto (rpm) para separação do soro e realização das análises dos biomarcadores clínicos no laboratório de Análises Clínica no Instituto de Pesquisa da Capacitação Física do Exército (IPCFEx). Para determinação dos biomarcadores de EO, uma alíquota de 1,5 mL de soro foi congelada e armazenada a -80 °C para posterior análise no laboratório de Citototoxicidade e Genotoxicidade do Departamento de Bioquímica, Instituto de Química na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Determinação dos biomarcadores de danos oxidativos

A PL foi avaliada através da formação de espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) durante uma reação em aquecimento, tendo como produto majoritário dessa reação, o malondialdeído (MDA), considerado um subproduto da PL (27). Os resultados foram expressos em nmol/ml de malondialdeído (MDA). O ensaio para detecção dos níveis de PC envolveu a derivatização do grupo carbonila com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) em meio alcalino(25). Foi utilizado 0,1 ml de soro para a determinação da concentração de proteínas pelo método de Stickland(26). Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteínas.

Determinação dos biomarcadores do sistema de defesa antioxidante

As determinações das concentrações séricas dos biomarcadores sorológicos AU e Mg, foram realizadas imediatamente após a fase pré-analítica. O aparelho utilizado para isto foi o analisador automatizado de química líquida BT3000 (Wiener Lab, Rosario, Argentina). Todas as análises ocorreram a 37°C e seguiram as recomendações do Kit comercial específico (Wiener Lab, Rosario, Argentina). O aparelho foi calibrado, diariamente, por um profissional do

laboratório de análises clínicas do IPCFEx, conforme protocolo do fabricante. Os GS totais foram analisados conforme o método baseado na velocidade de redução de ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB - Sigma Aldrich, D-8130)(27). Os resultados foram expressos em μM de GS totais. A AAT foi determinada pelo método de captura do radical 2,2-difenil-1-hidrazila (DPPH) por antioxidantes(28). Os resultados foram expressos em percentual de DPPH varrido.

Avaliação antropométrica

Para determinação das características antropométricas foram utilizados os seguintes instrumentos: Uma balança digital da marca Filizola[®] calibrada, com precisão de 0,1 Kg (massa corporal), fabricada em Campo Grande - MS, Brasil, e um estadiômetro da marca Sanny[®] com precisão de 0,001 m (estatura), fabricado em São Bernardo do Campo - SP, Brasil.

A massa corporal (MC) foi mensurada com o militar avaliado mantendo-se na posição ortostática (PO), descalço, usando somente traje de banho (sunga). A estatura (EST) foi medida com os avaliados em pé, posição ereta, com os braços estendidos e unidos ao tronco, pés unidos e mantendo o contato com o estadiômetro pelo calcanhar. Eles foram orientados no momento da avaliação a ficar em apnéia respiratória, com o objetivo de minimizar possíveis instabilidades na coluna vertebral. A medida foi executada com o cursor no ângulo de 90°, tendo a única exigência que o avaliado estivesse descalço. Posteriormente, foi calculado o índice de massa corporal (IMC) dividindo a MC total pela estatura elevada ao quadrado (Kg/m^2). Para tal, foi utilizado o protocolo da Sociedade Internacional para o avanço da Cineantropometria (27).

Análise estatística

O teste Shapiro-Wilk foi utilizado para analisar a normalidade dos dados dos biomarcadores bioquímicos. Confirmada a normalidade dos dados, foram utilizadas as medidas de localização (Média), de dispersão (Desvio Padrão). Em relação à estatística inferencial, o biomarcador bioquímico Mg nos homens apresentou uma distribuição não normal. Sendo assim, a análise estatística foi realizada através do teste não paramétrico de Friedman, com *post hoc* de Dunn's. Já os outros biomarcadores do estudo apresentaram distribuição normal, assim, foi utilizada uma ANOVA de medidas repetidas, com *post hoc* de Bonferroni. Foram considerados como significantes os resultados com $p < 0,05$. A análise estatística foi processada com auxílio do software STATISTICA[®] 12.0.

RESULTADOS

Descrição da amostra

O presente estudo foi realizado com 16 voluntários, sendo 9 militares do sexo masculino e 7 militares do sexo feminino, não ocorrendo morte amostral em nenhum dos momentos durante a realização da PPM.

Tabela 1. Características antropométricas e de composição corporal dos 16 participantes do estudo expressos em média (x) e desvio-padrão (DP).

Variável	Homem	Mulher
Idade (anos)	26,4 ± 3,1	26,1 ± 4,4
Massa corporal (Kg)	73,1 ± 7,0	55,7 ± 4,5
Estatura (m)	1,8 ± 0,1	1,7 ± 0,1
IMC (Kg/m ²)	23,1 ± 1,3	20,4 ± 1,5

IMC: índice de massa corporal.

Biomarcadores de danos oxidativos

Foram avaliados os biomarcadores de danos oxidativos a saber, PL e PC. Os homens apresentaram um aumento significativo nos níveis de PL e PC em T2 vs. T1 (PL - $\Delta\%$ = 128,6; PC - $\Delta\%$ = 18,2; $p<0,05$), com redução significativa desses mesmos biomarcadores em T3 vs. T2 (PL - $\Delta\%$ = -18,8; PC - $\Delta\%$ = -20,5; $p<0,05$). A PL aumentou significativamente em T3 vs. T1 (PL - $\Delta\%$ = 85,7; $p<0,05$).

As mulheres tiveram um aumento significativo na PC em T2 vs. T1 ($\Delta\%$ = 26,5; $p<0,05$), com redução significativa deste mesmo biomarcador em T3 vs. T2 ($\Delta\%$ = -14,0; $p<0,05$). A PL e a PC aumentaram significativamente em T3 vs. T1 (PL - $\Delta\%$ = 97,2; PC - $\Delta\%$ = 8,8; $p<0,05$), enquanto a PL aumentou significativamente em T3 vs. T2 ($\Delta\%$ = 57,8; $p<0,05$), o que não era o esperado.

Tabela 2 – Valores máximos dos biomarcadores de danos oxidativos em diferentes momentos de realização da prova de PPM.

Biomarcadores	Grupo	T1	T2	T3
PL (nmol/mL)	Masculino	2,8 ± 0,7	6,4 ± 0,8 ^a	5,2 ± 0,4 ^{b,c}
	Feminino	3,6 ± 1,3	4,5 ± 0,8	7,1 ± 0,8 ^{c,d}
PC (nmol/mg)	Masculino	0,33 ± 0,01	0,39 ± 0,07 ^a	0,31 ± 0,02 ^b
	Feminino	0,34 ± 0,01	0,43 ± 0,01 ^a	0,37 ± 0,01 ^{b,c}

T1: basal; T2: imediatamente após a prova de PPM; T3: 20h de recuperação. Anova de medidas repetidas com *post hoc* de Bonferroni. (^a) Quando estatisticamente significativo versus T1; (^b) Quando estatisticamente significativo versus T2; (^c) Quando estatisticamente significativo T3 versus T1; (^d) Quando estatisticamente significativo T3 versus T2. Os valores estão expressos como média ± desvio padrão. $P < 0,05$.

Biomarcadores do sistema de defesa antioxidante

Foram avaliados os biomarcadores do sistema de defesa antioxidante AU, Mg, GS totais e AAT. Foi observado nos homens um aumento significativo nos níveis de AU, Mg e AAT em T2 vs. T1 (AU $\Delta\%$ = 11,4; Mg - $\Delta\%$ = 28,6; AAT - $\Delta\%$ = 19,1; $p<0,05$), com redução significativa nos níveis de Mg e AAT em T3 vs. T2 (Mg - $\Delta\%$ = -7,4; AAT - $\Delta\%$ = -9,7; $p<0,05$). Curiosamente, o AU aumentou significativamente em T3 vs. T1 ($\Delta\%$ = 11,4; $p<0,05$), não sendo observado diferença significativa em T2 vs. T3 ($p>0,05$). Não foi observada alteração significativa entre os momentos nos níveis de GS totais ($p>0,05$).

As mulheres tiveram um aumento significativo nos níveis de AU, GS totais e AAT em T2 vs. T1 (AU - $\Delta\%$ = 32,4; GS totais - $\Delta\%$ = 16,1; AAT - $\Delta\%$ = 11,7; $p<0,05$), com redução significativa no AU e AAT em T3 vs. T2 (AU $\Delta\%$ = -20,0; AAT - $\Delta\%$ = -15,0; $p<0,05$). A propósito, o Mg reduziu significativamente em T2 e T3 vs. T1 ($\Delta\%$ de ambos= -7,4).

Tabela 3 – Valores máximos dos biomarcadores do sistema de defesa antioxidante em diferentes momentos de realização da prova de PPM.

Biomarcadores	Grupo	T1	T2	T3
Ácido úrico (mg/dL)	Masculino	4,4 ± 0,4	4,9 ± 0,6 ^a	4,9 ± 0,8 ^c
	Feminino	3,4 ± 0,7	4,5 ± 1,0 ^a	3,6 ± 1,3 ^b
Magnésio (mg/dL)	Masculino	2,1 ± 0,4	2,7 ± 0,1 ^a	2,5 ± 0,1 ^{b,c}
	Feminino	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1 ^a	2,5 ± 0,1 ^c
GS totais (µM)	Masculino	239,0 ± 98,7	296,8 ± 50,8	260,4 ± 38,1
	Feminino	277,8 ± 38,2	322,6 ± 39,3 ^a	287,0 ± 30,3
AAT (% DPPH varrido)	Masculino	49,1 ± 4,5	58,5 ± 3,1 ^a	52,8 ± 5,1 ^b
	Feminino	51,5 ± 3,8	57,5 ± 3,3 ^a	48,9 ± 5,7 ^b

T1: basal; T2: imediatamente após a prova de PPM; T3: 20h de recuperação. Anova de medidas repetidas com *post hoc* de Bonferroni para os dados paramétricos e teste não paramétrico de Friedman, com *post hoc* de Dunn's. (^a) Quando estatisticamente significativo versus T1; (^b) Quando estatisticamente significativo versus T2; (^c) Quando estatisticamente significativo T3 vs. T1. Os valores estão expressos como média ± desvio padrão. $P < 0,05$.

DISCUSSÃO

Este trabalho investigou o efeito agudo da realização da pista de PPM sobre os níveis de biomarcadores de dano oxidativo (ex. PC e PL) e sistema de defesa antioxidante (ex. GS totais, AAT, AU e Mg) em militares atletas de pentatlo militar do sexo masculino e feminino oriundos de diversas organizações militares do Exército Brasileiro.

Ao observar os resultados foi possível identificar que a PPM induziu um comprometimento em praticamente todos os biomarcadores avaliados, exceto nos GS totais nos homens. Este fato pode estar relacionado com a alta exigência física necessária para transposição dos obstáculos da PPM militares. Cabe ressaltar que o presente estudo é pioneiro na análise de um conjunto de biomarcadores bioquímicos de danos oxidativos e sistema de defesa antioxidante de atletas de pentatlo militar no âmbito das Forças Armadas durante a realização da PPM, não sendo encontrados dados previamente publicados na literatura relativos às variações dos parâmetros avaliados neste contexto particular.

De fato, segundo Lee *et al.* (2017) existem dificuldades no emprego de biomarcadores que permitem efetivamente rastrear alterações em indivíduos durante a prática de AF e programas de TF, particularmente, em atletas e militares. Por outro lado, estudos envolvendo militares apontam o TF como a causa primária e um fator de risco para o desenvolvimento de lesões, principalmente as musculoesqueléticas, que ameaçam a prontidão militar e impõem uma despesa financeira significativa (26, 27, 28).

Os homens apresentaram um aumento significativo nos níveis de PL e PC em T2, enquanto nas mulheres neste mesmo momento, este aumento significativo só foi observado na PC. As proteínas são bastante suscetíveis ao ataque das EROs e isto se deve à sua elevada abundância nos sistemas biológicos, constituindo cerca de 70% da composição celular, e rápida reação com muitos oxidantes, o que explica os danos de PC em ambos os sexos (Davies, 2016; Hawkins e Davies, 2019). A redução significativa observada na PL e PC nos homens, bem como a PC nas mulheres em T3 vs. T2 retratam o período de recuperação frente ao desgaste físico realizado pelos atletas. (29, 30)

No entanto, o aumento da PL e PC em ambos os sexos em T3 vs. T1, sugerem que o tempo destinado a recuperação não foi suficiente, sendo mais prejudicial para as mulheres, que apresentaram um aumento significativo da PL em T3 vs. T2, o que não era o esperado. Os resultados aqui encontrados, evidenciam o comportamento dos biomarcadores de danos oxidativo frente ao estresse físico gerado durante a execução da PPM. Este estresse físico, contribuiu com o aumento da produção de EROs/ERNs e a instalação de um quadro de EO no organismo dos atletas (6, 31). A deterioração acentuada no desempenho anaeróbico como este

observado durante a realização da PPM, segundo Fatouros *et al.*(34) carece de um tempo de 72h de recuperação para retorno dos biomarcadores de EO aos seus valores basais, explicando assim o aumento da PL nas mulheres em T3 vs. T2, uma vez que o tempo de recuperação foi apenas de 20h devido ao intervalo entre provas, sendo a prova a ser realizada após a PPM, a natação utilitária.

O aumento significativo da PL em T3 vs. T2 nas mulheres também pode ser explicado pela diminuição dos níveis de estrogênio, hormônio conhecido como um importante antioxidante, que potencializa a performance musculoesquelética (Razzak ZA *et al.* e Chidi-Ogbolu N *et al.*)(32,33). Existem evidências na literatura, que o estrogênio tem seus níveis reduzidos em atletas do sexo feminino e isto é devido ao alto volume de treinamento, que demanda alto gasto energético, e também aumenta a taxa metabólica basal advinda do maior volume muscular relativo dessas atletas (35, 36). De acordo com Huhmann, os efeitos do treinamento excessivo, tem reflexos no baixo percentual total de gorduras que são utilizados como base na produção de estrogênio (39).

Os danos na membrana celular que tem como consequências o aumento da PL (38, 3), e o aumento nos níveis de PC (29, 39) estão em harmonia com outros estudos que abordaram como protocolo, exercícios de alta intensidade com características semelhantes a diversidade de movimentos executados pelos atletas deste estudo, tais como o *Crossfit Training* (40, 41, 44). Torna-se digno de destaque, que os danos oxidativos nas proteínas e membrana celular, modificam a estrutura das células provocando diversos tipos de cânceres, perda de funções de células e tecidos, corroborando para fraqueza e fadiga muscular (43, 44).

Os exercícios realizados pelos atletas na PPM foram capazes de ativar o sistema de defesa antioxidante, sendo observado nos homens o aumento significativo da AAT, Mg e AU em T2 vs. T1, tendo como objetivo, atenuar os danos oxidativos nas células do organismo provocado pelo aumento das EROs/ERNs. Os biomarcadores Mg e AAT reduziram significativamente em T3 vs. T2, seguindo o mesmo comportamento da redução da PL e PC observada neste mesmo momento, configurando assim, a relevância destes biomarcadores no combate as EROs/ERNs. No entanto, nas mulheres o aumento significativo observado em T2 vs. T1 foram nos biomarcadores AU, GS totais e AAT e, com uma redução significativa em T3 vs. T2 no AU e AAT. Curiosamente, o Mg reduziu significativamente em T2 e T3 vs. T1.

Acreditamos que o aumento significativo em ambos os sexos do AU em T2 vs. T1 está relacionado ao aumento da demanda energética, pois neste estado ocorre o comprometimento na regeneração da enzima ATPase e o aumento da síntese de AU via enzima xantina oxidase, bem

como das EROs (13, 45). Entretanto, o aumento significativo em T3 vs. T1 do AU juntamente com a PL nos homens, reforça o papel deste potente antioxidante em combater as EROs e prevenir a PL(48). Neste cenário, destacamos que o aumento significativo observado no AU em T3 vs. T1, deve-se a sua ação como resposta antioxidante, porém mais tardia, sendo mais evidenciada em períodos de recuperação pós exercício físico. Este aumento significativo observado nos homens, não foi observado nas mulheres, nem em T2 vs. T1 e T3 vs. T2, o que em parte, explica o aumento significativo da PL nestes momentos (47, 48).

A deficiência de micronutrientes como o Mg, pode afetar negativamente o desempenho físico, uma vez que estão envolvidos em diversos mecanismos fisiológicos e bioquímicos relevantes no processo de obtenção de energia e defesa antioxidante (14, 49). Neste sentido, o aumento significativo observado nos homens na concentração de Mg em T2 vs. T1 parece estar relacionado a sua utilização no metabolismo energético e auxílio na manutenção da contração e relaxamento muscular (51, 52). A redução significativa vista em T3 vs. T2 reflete a uma menor necessidade do músculo em recrutar Mg e o aumento significativo em T3 vs. T1 demonstra que as concentrações de Mg não foram totalmente recuperadas aos níveis basais e, que o mesmo continua a desempenhar as suas diversas funções fisiológicas.

As mulheres não apresentaram aumento significativo no Mg em T2 vs. T1, ao mesmo tempo, é sabido que a carência deste mineral altera a fluidez das membranas celulares, promovendo perturbações na homeostase do Ca^{2+} , o que contribui de forma sinérgica para o processo de PL. Neste contexto, acreditamos que o fato de não ter sido observado diferença significativa nos níveis de PL em T2 vs. T1 nas mulheres, esteja relacionado a manutenção fisiológica no Mg em proteger a membrana celular, uma vez que não precisou ser empregado em outras funções. De fato, a redução significativa observada neste biomarcador em T2 e T3 vs. T1 está acompanhada do aumento significativo da PL nestes dois momentos, evidenciando a sua relevância na manutenção da estabilidade da membrana celular (53)(54).

Cabe ressaltar, que não foi observado alteração significativa nos níveis de GS totais nos homens, sendo este biomarcador considerado um dos principais antioxidantes plasmáticos (31, 53, 54) . Este dado pode ser explicado pelo consumo de outros antioxidantes antes do uso destes, não sendo necessário à sua utilização. Neste cenário, segundo Jacob RA(57) existe uma ordem de antioxidantes a serem consumidos pelo organismo, tais como vitamina C, tióis e bilirrubina. De forma interessante, nas mulheres os GS totais aumentaram significativamente em T2 vs. T1, demonstrando uma maior suscetibilidade deste sexo frente ao ataque da EROs/ERNs, refletidos em danos na PC e PL (13, 21, 55).

Os homens e as mulheres apresentaram um aumento significativo na AAT em T2 vs. T1, ficando evidente a tentativa do organismo em evitar a instalação de um quadro de EO. Esta ação sinérgica é realizada através de um conjunto de antioxidantes (endógenos e exógenos) que combatem a ação das EROs/ERNs, tendo a finalidade de manter a homeostase do organismo (6, 56, 13).

Cabe salientar, que a redução da AAT em T3 vs. T2 em ambos os sexos, demonstra a relevância dos antioxidantes em momento de maior necessidade do organismo e, que o tempo de recuperação utilizado neste estudo, para este biomarcador, foi suficiente para atingir valores próximos dos níveis basais(2). Neste sentido, um estudo realizado por Cipryan L.(59), verificou que a partir de 3h a AAT reduziu em indivíduos que realizaram exercícios de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), estando este dado em harmonia com o nosso estudo.

Em linhas gerais, o estudo demonstrou que os homens possuem um desempenho físico e uma recuperação melhor quando comparados com as mulheres e foram menos suscetíveis ao ataque das EROs/ERNs neste modelo de exercício. De fato, Leite DG *et al.* (22) observaram em seu estudo, níveis mais elevados de lactato sanguíneo nos homens quando comparados com as mulheres após a realização da PPM, e ainda assim, o tempo de execução da pista foi maior no grupo feminino. Cabe ressaltar, que as mulheres ao realizarem a pista de PPM, contam com adaptações para transpor alguns obstáculos (banquetas), bem como não realizam todos os exercícios, tais como escadas, piano e rampa com corda (23)

A PPM mostrou-se útil como um bom modelo de treinamento para os militares, sendo necessário observar o período ideal de recuperação, a fim de se evitar um quadro de lesão e fadiga, carecendo então de um planejamento específico de treinamento (15, 16). A alimentação adequada também é um tópico importante, pois muitos antioxidantes são oriundos da dieta e contribuem juntamente com os antioxidantes endógenos no combate as EROs/ERNs formadas durante o exercício intenso, em particular, o sexo feminino, cujo resultados evidenciaram um maior comprometimento ao seu organismo(3, 20, 59). Estas sugestões encontram respaldos em alguns estudos que fizeram uso de estratégias nutricionais em seus atletas, inclusive com suplementação(60, 61, 62).

Nós reconhecemos algumas limitações no presente estudo: i) tamanho do grupo amostral, que pode ter contribuído para uma maior interferência do fator individualidade biológica em relação às respostas dos biomarcadores; ii) a quantidade de trabalhos publicados e divulgados na área militar sobre o esporte de pentatlo militar, especialmente sobre o público feminino. iii) impossibilidade de realizar mais coletas de sangue com os militares em repouso, para observação

da curva de decaimento dos biomarcadores que permaneceram elevados após 20 horas de recuperação; iv) falta de análise de alguns biomarcadores que poderiam contribuir de maneira mais ampla no entendimento dos fenômenos biológicos ocorridos com os militares durante o período de realização da PPM, tais como Interleucina-6, proteína C reativa e as enzimas glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase e superóxido dismutase.

CONCLUSÃO

Nosso estudo é pioneiro, pois apresenta de forma inédita a relação de um conjunto de biomarcadores bioquímicos de estresse oxidativo afetando o sistema de defesa antioxidante e causando lesão biológica em nove atletas do sexo masculino e sete atletas do sexo feminino, ambos pertencentes a modalidade de pentatlo militar e integrantes das equipes de alto rendimentos das Forças Armadas.

O efeito agudo da realização da PPM gerou um quadro de estresse oxidativo, demonstrado por meio da elevação dos níveis séricos dos biomarcadores que indicam ação dos agentes oxidantes, bem como foi capaz de ativar o sistema antioxidante de ambos os sexos, evidenciado pelo aumentos dos níveis séricos dos biomarcadores que indicam ação deste sistema, cabendo ressaltar que o sistema antioxidante feminino não atuou suficientemente bem para diminuir os níveis de peroxidação lipídica, sendo provável que a PPM cause um estresse oxidativo muito alto no organismo feminino para ser recuperado em um tempo de até 20h para recuperação.

Assim, é possível que as descobertas deste estudo, ampliem nossa compreensão sobre a fisiologia do militar em ambientes que simulam um cenário de obstáculos encontrados no campo de batalha, e assim possam servir de base para que o comando do Exército e as confederações esportivas adotem medidas preventivas visando preservar a saúde dos indivíduos sujeitos a estes tipos de estresses físicos, como uma maior atenção a periodização das sessões de treinamento, bem como uma possível utilização de suplementação que auxilie o sistema antioxidante.

REFERÊNCIAS

1. Siedler M, Murad MH, Falck-Ytter Y, Dahm P, Mustafa RA, Sultan S, et al. Guidelines about physical activity and exercise to reduce cardiometabolic risk factors: Protocol for a systematic review and critical appraisal. *BMJ Open*. 2020;10(1):1–6.
2. Di Meo S, Napolitano G, Venditti P. Mediators of Physical Activity Protection against ROS-Linked Skeletal Muscle Damage. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Jun 20;20(12):3024. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/12/3024>
3. Powers SK, Deminice R, Ozdemir M, Yoshihara T, Bomkamp MP, Hyatt H. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? *J Sport Heal Sci* [Internet]. 2020 Sep;9(5):415–25. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2095254620300399>
4. Sies H. Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants* [Internet]. 2020 Sep 10;9(9):852. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/9/852>
5. Powers SK, Nelson WB, Hudson MB. Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2011 Sep;51(5):942–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.009>
6. Lu Y, Wiltshire HD, Baker JS, Wang Q. Effects of High Intensity Exercise on Oxidative Stress and Antioxidant Status in Untrained Humans: A Systematic Review. *Biology (Basel)* [Internet]. 2021 Dec 4;10(12):1272. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-7737/10/12/1272>
7. Magherini F, Fiaschi T, Marzocchini R, Mannelli M, Gamberi T, Modesti PA, et al. Oxidative stress in exercise training: the involvement of inflammation and peripheral signals. *Free Radic Res* [Internet]. 2019 Dec 2;53(11–12):1155–65. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10715762.2019.1697438>
8. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2015 Jun;97:55–74. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523415300039>
9. Brendel H, Shahid A, Hofmann A, Mittag J, Bornstein SR, Morawietz H, et al. NADPH oxidase 4 mediates the protective effects of physical activity against obesity-induced vascular dysfunction. *Cardiovasc Res* [Internet]. 2020 Aug 1;116(10):1767–78. Available from: <https://academic.oup.com/cardiovasres/article/116/10/1767/5652189>
10. Tarafdar A, Pula G. The Role of NADPH Oxidases and Oxidative Stress in Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 Nov 30;19(12):3824. Available from: <http://www.mdpi.com/1422-0067/19/12/3824>
11. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* [Internet]. 2017 Nov 18;19(11):42. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11883-017-0678-6>
12. Dai Y, Chen D, Xu T. DNA Methylation Aberrant in Atherosclerosis. *Front Pharmacol* [Internet]. 2022 Mar 3;13(March):1–12. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2022.815977/full>

13. Kurajoh M, Fukumoto S, Yoshida S, Akari S, Murase T, Nakamura T, et al. Uric acid shown to contribute to increased oxidative stress level independent of xanthine oxidoreductase activity in MedCity21 health examination registry. *Sci Rep* [Internet]. 2021 Dec 1;11(1):7378. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86962-0>
14. Wyparło-Wszelaki M, Wąsik M, Machoń-Grecka A, Kasperczyk A, Bellanti F, Kasperczyk S, et al. Blood Magnesium Level and Selected Oxidative Stress Indices in Lead-Exposed Workers. *Biol Trace Elem Res* [Internet]. 2021 Feb 6;199(2):465–72. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s12011-020-02168-x>
15. Conseil International du Sport Militaire. Military pentatlon regulations. [Internet]. 2020 [cited 2022 Jun 2]. p. 9–77. Available from: <https://www.milспорт.one/sports/military-pentathlon>
16. BRASIL. Ministério da Defesa. Manual de Campanha Treinamento Físico Militar. 5ª Edição. Vol. 1. 2021. p. 111
17. Ojanen T, Jalanko P, Kyröläinen H. Physical fitness, hormonal, and immunological responses during prolonged military field training. *Physiol Rep* [Internet]. 2018 Sep;6(17):e13850. Available from: <http://doi.wiley.com/10.14814/phy2.13850>
18. Kyröläinen H, Pihlainen K, Vaara JP, Ojanen T, Santtila M. Optimising training adaptations and performance in military environment. *J Sci Med Sport* [Internet]. 2018;21(11):1131–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jsams.2017.11.019>
19. Wood DE, Swain DP. Influence of Body Mass on Fitness Performance in Naval Special Warfare Operators. *J Strength Cond Res* [Internet]. 2021 Nov;35(11):3120–7. Available from: <https://journals.lww.com/10.1519/JSC.0000000000003249>
20. Sena M, Fortes M, Mello D, Lisboa S, Pereira M. Efeito da suplementação com selênio e com as vitaminas C e E sobre biomarcadores hematológicos em militares durante treinamento físico vigoroso e prolongado. *JIM* [Internet]. 2022 Feb 1;3(1):087–104. Available from: <https://revistas.ponteditora.org/index.php/jim/article/view/486>
21. Wood PS, Grant CC, du Toit PJ, Fletcher L. Effect of Mixed Basic Military Training on the Physical Fitness of Male and Female Soldiers. *Mil Med* [Internet]. 2017 Jul;182(7):e1771–9. Available from: <https://academic.oup.com/milmed/article/182/7/e1771-e1779/4158539>
22. Leite DG, Filho JEM de M, Mello DB de, Wechinewsky FM. Nível de lactato sanguíneo, em homens e mulheres, verificados antes e após a execução da pista de pentatlo militar. *Rev Agulhas Negras*. 2019;3(3):126–31.
23. Mainenti MRM, Miarka B, Loyola MVM, Santos LVC dos, Mello DB de. Female military pentathlon athletes and scientific research - a mini-review. *Mot Rev Educ Física* [Internet]. 2022;28(spe1). Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-65742022000201601&tlng=em
24. Brasil MS, Sanitária AN de V. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 306 de 7 de dezembro. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. In 2004.

25. Sumita NM, Andriolo A, Ferreira CE dos S, Campana GA, Oliveira G, De F, et al. Sociedade Brasileira De Patologia Clínica / Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Boas Práticas em Laboratório Clínico. Manole Ltd. Medicina. 2020.
26. Brasil MS, ANVISA AN de VS. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 20 de 11 de abril. Dispõe sobre regulamento sanitário para o transporte de material biológico humano. In 2014.
27. Silva VS da, Vieira MFS. International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK) Global: international accreditation scheme of the competent anthropometrist. Rev Bras Cineantropometria Desempenho Hum [Internet]. 2020;22. Available from:http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-00372020000100602&tlng=em
28. Lee EC, Fragala MS, Kavouras SA, Queen RM, Pryor JL, Casa DJ. Biomarkers in Sports and Exercise: Tracking Health, Performance, and Recovery in Athletes. J Strength Cond Res [Internet]. 2017 Oct;31(10):2920–37. Available from:<https://journals.lww.com/00124278-201710000-00031>
29. Bullock SH, Jones BH, Gilchrist J, Marshall SW. Prevention of Physical Training–Related Injuries. Am J Prev Med [Internet]. 2010 Jan;38(1):S156–81. Available from:<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S074937970900676X>
30. Wardle SL, Greeves JP. Mitigating the risk of musculoskeletal injury: A systematic review of the most effective injury prevention strategies for military personnel. J Sci Med Sport [Internet]. 2017 Nov;20:S3–10. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1440244017310605>
31. Davies MJ. Protein oxidation and peroxidation. Biochem J [Internet]. 2016 Apr 1;473(7):805–25. Available from: <https://portlandpress.com/biochemj/article/473/7/805/49387/Protein-oxidation-and-peroxidation>
32. Hawkins CL, Davies MJ. Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. J Biol Chem [Internet]. 2019 Dec;294(51):19683–708. Available from:<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925820302817>
33. Cerqueira É, Marinho DA, Neiva HP, Lourenço O. Inflammatory Effects of High and Moderate Intensity Exercise—A Systematic Review. Front Physiol [Internet]. 2020 Jan 9;10(January):1–14. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2019.01550/full>
34. Fatouros IG, Chatzinikolaou A, Douroudos II, Nikolaidis MG, Kyparos A, Margonis K, et al. Time-Course of Changes in Oxidative Stress and Antioxidant Status Responses Following a Soccer Game. J Strength Cond Res [Internet]. 2010 Dec;24(12):3278–86. Available from: <https://journals.lww.com/00124278-201012000-00012>
35. Razzak ZA, Khan AA, Farooqui SI. Effect of aerobic and anaerobic exercise on estrogen level, fat mass, and muscle mass among postmenopausal osteoporotic females. Int J Health Sci (Qassim) [Internet]. 2020;13(4):106. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31341450><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC6619462>

36. Chidi-Ogbolu N, Baar K. Effect of Estrogen on Musculoskeletal Performance and Injury Risk. *Front Physiol* [Internet]. 2019 Jan 15;9(Jan). Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.01834/full>
37. Matsuda T, Ogata H, Kanno M, Ishikawa A, Yamada M, Sakamaki-Sunaga M. Effects of the menstrual cycle on oxidative stress and antioxidant response to high-intensity intermittent exercise until exhaustion in healthy women. *J Sports Med Phys Fitness* [Internet]. 2020 Nov;60(10). Available from: <https://www.minervamedica.it/index2.php?show=R40Y2020N10A1335>
38. Feingold KR, Brinton EA, Grunfeld C. The Effect of Endocrine Disorders on Lipids and Lipoproteins [Internet]. *Endotext*. 2000. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28121116>
39. Huhmann K. Menses Requires Energy: A Review of How Disordered Eating, Excessive Exercise, and High Stress Lead to Menstrual Irregularities. *Clin Ther* [Internet]. 2020 Mar;42(3):401–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.01.016>
40. Steels EL, Learmonth RP, Watson K. Stress tolerance and membrane lipid unsaturation in *Saccharomyces cerevisiae* grown aerobically or anaerobically. *Microbiology* [Internet]. 1994 Mar 1;140(3):569–76. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-140-3-569>
41. Park S-Y, Kwak Y-S. Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. *J Exerc Rehabil* [Internet]. 2016 Apr 26;12(2):113–8. Available from: <http://e-jer.org/journal/view.php?number=2013600254>
42. Kliszczewicz B, John QC, Daniel BL, Gretchen OD, Michael ER, Kyle TJ. Acute Exercise and Oxidative Stress: CrossFit™ vs. Treadmill Bout. *J Hum Kinet* [Internet]. 2015 Sep 1;47(1):81–90. Available from: <https://www.sciendo.com/article/10.1515/hukin-2015-0064>
43. Rios MJM. Efeitos de uma sessão de treino de CrossFit em biomarcadores plasmáticos de lesão oxidativa [Internet]. 2018. p. 77. Available from: <https://hdl.handle.net/10216/113287>
44. Oliver-López A, García-Valverde A, Sabido R. Summary of the evidence on responses and adaptations derived from crossfit training. A systematic review. *Retos* [Internet]. 2022 Jul 28;46:309–22. Available from: <https://recyt.fecyt.es/index.php/retos/index>
45. Longobucco Y, Masini A, Marini S, Barone G, Fimognari C, Bragonzoni L, et al. Exercise and Oxidative Stress Biomarkers among Adult with Cancer: A Systematic Review. de Cassia Marqueti R, editor. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2022 Feb 18;2022:1–16. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2022/2097318/>
46. Nocella C, Cammisotto V, Pigozzi F, Borrione P, Fossati C, D'Amico A, et al. Impairment between Oxidant and Antioxidant Systems: Short- and Long-term Implications for Athletes' Health. *Nutrients* [Internet]. 2019 Jun 15;11(6):1353. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/6/1353>

47. Sundberg CW, Fitts RH. Bioenergetic basis of skeletal muscle fatigue. *Curr Opin Physiol* [Internet]. 2019 Aug;10:11827. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468867319300902>
48. MIKAMI T, SORIMACHI M. Uric Acid Contributes Greatly to Hepatic Antioxidant Capacity Besides Protein. *Physiol Res* [Internet]. 2017 Dec 30;1001–7. Available from: http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/66/66_1001.pdf
49. Souza-Junior T, Lorenço-Lima L, Ganini D, Vardaris C, Polotow T, Barros M. Delayed uric acid accumulation in plasma provides additional anti-oxidant protection against iron-triggered oxidative stress after a wingate test. *Biol Sport* [Internet]. 2014 Sep 12;31(4):2716. Available from: <http://183.indexcopernicus.com/abstracted.php?level=5&I CID=1120934>
50. Wiecek M, Maciejczyk M, Szymura J, Szygula Z, Kantorowicz M. Changes in Non-Enzymatic Antioxidants in the Blood Following Anaerobic Exercise in Men and Women. López Lluch G, editor. *PLoS One* [Internet]. 2015 Nov 24;10(11):e0143499. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0143499>
51. Zheltova AA, Kharitonova M V., Iezhitsa IN, Spasov AA. Magnesium deficiency and oxidative stress: an update. *BioMedicine* [Internet]. 2016 Dec 17;6(4):20. Available from: <http://www.globalsciencejournals.com/article/10.7603/s40681-016-0020-6>
52. Zhang Y, Xun P, Wang R, Mao L, He K. Can Magnesium Enhance Exercise Performance? *Nutrients* [Internet]. 2017 Aug 28;9(9):946. Available from: <http://www.mdpi.com/2072-6643/9/9/946>
53. Amorim AG, Tirapegui J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. *Rev Nutr* [Internet]. 2008 Oct;21(5):563–75. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141552732008000500009&lng=pt&tlng=pt
54. Morais JBS, Severo JS, Santos LR dos, de Sousa Melo SR, de Oliveira Santos R, de Oliveira ARS, et al. Role of Magnesium in Oxidative Stress in Individuals with Obesity. *Biol Trace Elem Res* [Internet]. 2017 Mar 22;176(1):20–6. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12011-016-0793-1>
55. Souza LMV, Costa RDA, Dos Santos JL, Estevam CDS, De Araújo SS. Malondialdeído e grupo sulfidríla como marcadores de danos oxidativos no treinamento intervalado de alta intensidade. *CIAFIS* [Internet]. 18 set 2017;1(1). Available from: eventos.set.edu.br/CIAFIS/article/view/6683
56. Faure P, Lafond J-L. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. In: *Analysis of Free Radicals in Biological Systems* [Internet]. Basel: Birkhäuser Basel; 1995. p. 23748. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-0348-9074-8_17
57. Jacob RA. The integrated antioxidant system. *Nutr Res* [Internet]. 1995 May;15(5):755–66. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/027153179500041G>

58. Kashef A, Zare Karizak S, Sadeghi Nikoo A, Kashef M. Response of Some Hematologic Factors to Single Session of CrossFit Exercise in Professional Male Athletes. *Zahedan J Res Med Sci* [Internet]. 2022 Jun 28;24(3). Available from:[https://brieflands.com/articles /zjrms-116667.html](https://brieflands.com/articles/zjrms-116667.html)
59. Cipryan L. IL-6, Antioxidant Capacity and Muscle Damage Markers Following High-Intensity Interval Training Protocols. *J Hum Kinet* [Internet]. 2017 Feb 25;56(1):139–48. Available from: <https://www.sciendo.com/article/10.1515/hukin-2017-0031>
60. Conseil International du Sport Militaire. Regras do Pentatlo Militar. International military sports council edition 2018 militay pentathlon. Cism. 2018;
61. Paschalis V, Theodorou AA, Margaritelis N V., Kyparos A, Nikolaidis MG. N-acetylcysteine supplementation increases exercise performance and reduces oxidative stress only in individuals with low levels of glutathione. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2018 Feb;115:28897. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584917312388>
62. Silva J, Lins N, Gomes W, Campos E, Costa A. Suplementação de nitrato no desempenho durante exercício intermitente de alta intensidade: Uma revisão de literatura. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva* [Internet]. 2022;53–62. Available from:<http://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/1935>
63. Boldyrev AA, Aldini G, Derave W. Physiology and Pathophysiology of Carnosine. *Physiol Rev* [Internet]. 2013 Oct;93(4):1803–45. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00039.2012>

APÊNDICE A



**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DECEX – CCFEX/FSJ
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA DO EXÉRCITO**

O senhor está sendo convidado na condição de voluntário para participar de uma pesquisa intitulada “Efeitos da pista de pentatlo militar sobre biomarcadores de estresse oxidativo em atletas de pentatlo militar”, sob a responsabilidade do pesquisador da Escola de Educação Física do Exército (EsEFEx), Daniel Parada Theodoro, que terá a responsabilidade de obter o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Esta pesquisa possui vínculo institucional com o Instituto de Pesquisa da Capacitação Física do Exército (IPCFEx), Escola de Educação Física do Exército (EsEFEx) e Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), local onde serão realizadas as coletas de dados e análises do material biológico.

Nesta pesquisa, busca-se investigar as alterações que ocorrem em biomarcadores de danos oxidativos atletas de pentatlo militar das Forças Armadas Brasileira, que realizaram o percurso da pista de pentatlo militar (PPM).

Sua participação se dará em três momentos e seguirá a seguinte sequência: 15 minutos antes da execução da PPM, imediatamente após a execução da prova e 17h de recuperação após a execução da prova, quando serão realizadas as coletas de sangue para análise de biomarcadores bioquímicos clínicos e de dano oxidativo. A coleta de sangue será realizada por profissionais habilitados e experientes, sendo utilizado para isto um tubo a vácuo de 8 mL, sem anticoagulante para as dosagens dos analitos. Estes procedimentos não comprometerão a sua integridade física, nem causará danos a sua saúde, embora seja possível risco associado de mínima dor local e hematoma gerado pela agulha na coleta sanguínea. Caso isso ocorra, você deverá fazer uma compressa de gelo no local afetado por quinze minutos a cada hora, durante as seis primeiras horas. Após essa medida, compressas mornas podem ser colocadas no local para acelerar o desaparecimento do hematoma.

Os exames estarão sob responsabilidade da Farmacêutica Paula Fernandez Ferreira (CRF/RJ 21491) e sua equipe respeitando estritamente as boas práticas em laboratório clínico recomendadas pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial e a

resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 306/2004 – ANVISA para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

Você não terá nenhum gasto e ganho financeiro por participar nesta pesquisa, e não tem nenhuma obrigação de contribuir para este ou outro estudo e, sua recusa não ocasionará nenhum prejuízo em sua carreira. A eventual concordância agora não implica em nenhuma obrigação de futuras coletas.

Caso você aceite participar desta pesquisa, contribuirá para saúde e qualidade de vida dos voluntários, e outros envolvidos que terão acesso por meio de publicações científicas. Se depois de consentir em sua participação o senhor desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo, sem nenhum prejuízo ou coação. Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada.

Este termo de consentimento foi impresso em duas vias, uma via será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida ao voluntário. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de cinco anos e, após esse tempo, serão destruídos.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): é um conjunto formado por profissionais de várias áreas e sem influência de outros órgãos ou pessoas que deve atuar em instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil. Ele foi criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas e para contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões corretos (éticos).

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer minhas dúvidas.

Rio de Janeiro, RJ, _____ de _____ de 20____.

Assinatura do Voluntário: _____

Assinatura da Testemunha: _____

Certifico que expliquei ao participante a natureza e o propósito associado à participação neste estudo e que respondi a todas as perguntas feitas e testemunhei a assinatura acima.

Assinatura do Pesquisador Responsável: _____

Rio de Janeiro, RJ, _____ de _____ de 20 ____.

Termo de Consentimento elaborado em concordância com a Resolução nº 510 de 07 de abril de 2016, do Conselho Nacional de Saúde – Diretrizes e Normas para a Realização de Experimentos com Seres Humanos.

Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, o Senhor poderá entrar em contato com o pesquisador: Daniel Parada Theodoro – EsEFEx, Av. João Luiz Alves s/n. – Urca –RJ – Cep.: 22291-090, pelo Tel.: (12) 991499213, e-mail: daniel_theodoro12@hotmail.com. Poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Naval Marcílio Dias – Rua César Zama, 185 - Lins de Vasconcelos, Rio de Janeiro - RJ, CEP: 20725-090 – Fone: (21) - 2599-5599. E- mail: cep@hnmd.mar.mil.br

Observação: “todas as páginas devem estar rubricadas”

TERMO DE CESSÃO DE DIREITOS SOBRE TRABALHO CIENTÍFICO

Título do trabalho científico:

EFEITO AGUDO DA REALIZAÇÃO DA PISTA DE PENTATLO MILITAR SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.

Nome completo do autor:

DANIEL PARADA THEODORO.

1. Este trabalho, nos termos da legislação que resguarda os direitos autorais, é considerado de minha propriedade.
2. Autorizo a Escola de Educação Física do Exército a utilizar meu trabalho para uso específico no aperfeiçoamento e evolução da Força Terrestre, bem como a divulgá-lo por meio de publicação em revista técnica do Exército ou outro veículo de comunicação.
3. A Escola de Educação Física do Exército poderá fornecer cópia do trabalho mediante ressarcimento das despesas de postagem e reprodução. Caso seja de natureza sigilosa, a cópia somente deverá ser fornecida se o pedido for encaminhado por meio de organização militar, fazendo-se necessária a anotação do destino no Livro de Registro existente na Biblioteca.
4. É permitida a transcrição parcial de trechos do trabalho para comentários e citações, desde que sejam transcritos os dados bibliográficos dos mesmos, de acordo com a legislação sobre direitos autorais.
5. A divulgação do trabalho, em outros meios não pertencentes ao Exército, somente poderá ser feita com a autorização do autor ou da direção de ensino da Escola de Educação Física do Exército.

Rio de Janeiro, 19 de dezembro de 2022.

DANIEL PARADA THEODORO – 1º Ten



**EDSON AITA – Ten Cel
Cmt e Dir Ens da EsEFEx**

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHO DE
CONCLUSÃO DE CURSO NA BIBLIOTECA DIGITAL DE TRABALHOS
CIENTÍFICOSx**

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação, autorizo a Escola de Educação Física do Exército a disponibilizar através do site *www.esefex.ensino.eb.br/*, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998 (Lei de Direito Autoral), o texto integral da obra abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do Trabalho de Conclusão de Curso

Título do TCC:

EFEITO AGUDO DA REALIZAÇÃO DA PISTA DE PENTATLO MILITAR SOBRE

BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.

Nome completo do autor:

DANIEL PARADA THEODORO

Id: 020499767-0 CPF:43562857861 [email: daniel_theodoro12@hotmail.com](mailto:daniel_theodoro12@hotmail.com)

Autorizo disponibilizar e-mail na Base de Dados de Trabalhos de Conclusão de Curso da Biblioteca Digital de Trabalhos Científicos: (X) SIM () NÃO

Orientador:

Marcio Antonio de Barros Sena

Id: 011135514-5 CPF: 042.821.157-77 email: mabsmarcio@gmail.com

042.821.157-77
mabsmarcio@gmail.com

Membro da banca:

Marcio Antonio de Barros Sena - ST

Membro da banca:

Mirian Raquel Meira Mainenti

Membro da banca:

Adriane Mara de Souza Muniz

Data de apresentação: 23/11/2022

Titulação: Bacharel Ed. Física.

Área de conhecimento: Ed. Física

Palavras chave (até seis): Clivagem oxidativa - lesão oxidativa – Dano oxidativo – Militar

Rio de Janeiro, 19 de dezembro de 2022.

DANIEL PARADA THEODORO - 1º Ten



EDSON AITA – Ten Cel
Cmt e Dir Ens da EsEFEx



**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO E CULTURA DO EXÉRCITO
(DACED/1980)
DIRETORIA DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E CULTURAL DO EXÉRCITO
(DPHCE_x)**

TERMO DE AUTORIZAÇÃO BDE_x

Eu, Daniel Parada Theodoro, portador (a) do documento da identidade número 020499767-0, e do CPF 435628578-61, na qualidade de titular dos direitos morais e patrimoniais de autor que recaem sobre minha obra: EFEITO AGUDO DA REALIZAÇÃO DA PISTA DE PENTATLO MILITAR SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM MILITARES, autorizo a Diretoria do Patrimônio Histórico e Cultural do Exército (DPHCE_x), a partir desta data, a armazená-la em sua Biblioteca Digital (BDE_x), colocá-la ao alcance do público por meios eletrônicos, em particular mediante acesso on-line pela rede mundial de computadores, permitir a quem a ela tiver acesso que a reproduza, desde que seja citada a fonte. Fica proibida a reprodução para fins comerciais, bem como qualquer alteração no conteúdo da obra.

Rio de Janeiro, 24 de janeiro de 2022.

DANIEL PARADA THEODORO – 1º TEN