

EFEITO AGUDO DE NAC SOBRE MARCADORES DE DANO TECIDUAL EM ATLETAS DE VOLEIBOL

Alan de Jesus Pires de Moraes¹, Fábio Henrique Ornellas²,
Márcia Aparecida Gonçalves³, Aline Minuzzi Becker⁴,
Luciana da Silveira Cavalcante⁴, Fernanda da Silva Casagrande⁴,
Edson Luiz da Silva⁴, William Felipe Martins⁵, Vanessa Schweitzer⁶,
Ricardo Aurino de Pinho⁷, Magnus Benetti⁸

RESUMO

Objetivo: Este estudo objetivou avaliar o possível efeito agudo de suplementação com 1.200mg de N-acetilcisteína (NAC) sobre os marcadores bioquímicos e de lesão tecidual (ALT (Alanina aminotransferase), AST (Aspartato Aminotransferase), Fosfatase Alcalina, LDH (Lactato Desidrogenase), CK (Creatina Quinase), Ácido Úrico, Creatinina e Uréia); **Metodologia:** Estudo randomizado, duplo-cego controlado por placebo, sendo vinte atletas juvenis, que foram avaliados e submetidos a uma sessão de treinamento intenso de voleibol, sob efeito de Nac (1200mg) ou placebo, sendo mensurados os marcadores bioquímicos pré e pós-exercício. **Resultados:** Não houveram alterações significativas nos marcadores de estresse oxidativo e de dano tecidual. **Conclusão:** A ingestão de uma única dose de NAC não é suficiente para promover efeito antioxidante e/ou protetivo a danos teciduais.

Palavras-chave: Glutaciona; Exercício Físico; Antioxidantes.

1 - Profissional de Educação Física formado pela Universidade do Contestado – UnC – Caçador/SC

2 - Programa de Pós-Graduação Lato-Sensu – UGF

3 - Fisioterapeuta formada pela Universidade Alto Vale do Rio do Peixe – UNIARP – Caçador/SC

4 - Laboratório de Lipídios e Estresse Oxidativo – UFSC

5 - Laboratório de Pesquisa em Reabilitação Cardiopulmonar e Metabólica – UDESC

6 - Mestranda do Programa de Pós-graduação da Universidade Estadual de Santa Catarina – UDESC – Florianópolis/SC.

ABSTRACT

Acute Effects of NAC on markers of tissue damage in volleyball athletes

Objective: This study aimed to evaluate the possible acute effect of supplementation with 1,200 mg of N-acetylcysteine (NAC) on biochemical markers and tissue damage (ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase), alkaline phosphatase, LDH (Lactate Dehydrogenase), CK (Creatine Kinase), uric acid, creatinine and urea); **Methodology:** a randomized, double-blind placebo-controlled, twenty young athletes, who were evaluated and subjected to an intense training session of volleyball under the effect of NAC (1,200 mg) or placebo, and biochemical markers measured before and after exercise. **Results:** There were no significant changes in markers of oxidative stress and tissue damage. **Conclusion:** The ingestion of a single dose of NAC is not enough to promote antioxidant effect and / or the protective tissue damage.

Key words: Glutathione; Exercise; Antioxidants.

7- Laboratório de Bioquímica do exercício – UNESC

8 - Docente da Universidade Estadual de Santa Catarina – UDESC – Florianópolis/SC

E-mail: magnus.benetti@udesc.br

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Magnus Benetti

Universidade Estadual de Santa Catarina - UDESC, Ciências da Saúde e Esportes - CEFID

Rua Pascoal Simone, 358 - Coqueiros - Florianópolis /SC

CEP: 88080-350

Fone:(48) 3321-8600 - FAX:(48) 3321-8607

INTRODUÇÃO

O exercício físico é reconhecido por melhorar a saúde do indivíduo, seja na profilaxia ou como tratamento não-medicamentoso de diversas doenças (Myers, 2003). Porém o treinamento físico intenso induz uma maior atividade mitocondrial, em que aproximadamente 5% do oxigênio utilizado na mitocôndria, como acceptor de elétrons é liberado na forma de superóxido. A superprodução de radicais livres pode gerar desequilíbrio, promovendo uma alta demanda metabólica e induzindo a geração do estresse oxidativo (Powers e colaboradores, 2011).

O treinamento do voleibol, bem como a sua prática competitiva está bem registrada na literatura, onde os estudos evidenciam que ocorre o estresse oxidativo, estando este estresse associado com a diminuição da performance, fadiga, dano muscular e excesso de treinamento (overtraining) (Kurkcu e colaboradores, 2010; Silva, 2008; Powers e Jackson, 2008; Polidori e colaboradores, 2000; Dreissigacker e colaboradores, 2010) em outras modalidades.

No controle dos radicais livres, a suplementação com substâncias potencialmente anti-oxidantes tem sido uma das estratégias utilizadas (Gross, Baum e Hoppeler, 2011), entre elas, destaca-se a N-acetilcisteína (NAC), que é reconhecida como um doador de tiois, que atua como precursor da cisteína intracelular aumentando a produção de glutathione reduzida (GSH) (Pinho e colaboradores, 2006).

Sugere-se que o potencial efeito da NAC é diminuir os níveis de H₂O₂ pelo aumento da disponibilidade e ataque de GSH, alterando positivamente o equilíbrio da capacidade oxidante-antioxidante (Zhang e Zhang, 1999).

Medved e colaboradores (2004) afirmam que esse antioxidante aumenta a quantidade de cisteína muscular e disponibilidade de GSH e atenua a fadiga durante o exercício prolongado em indivíduos treinados, mas nenhum estudo foi encontrado relacionando a NAC com o controle do estresse oxidativo em atletas de voleibol, caracterizando uma lacuna na literatura científica.

Recentemente um estudo (Leelarungrayub e colaboradores, 2011) teve por objetivo investigar os efeitos da ingestão de curto prazo (7 dias) de 1.200mg/dia de NAC sobre a fadiga muscular, e sua

capacidade de controlar CK (creatina quinase), TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e lactato em homens sedentários, onde foi verificado que a ela ajuda a proteger da fadiga muscular e pode manter a Capacidade Antioxidante após exercício físico intenso, no entanto, não influencia nos valores de CK e TNF- α .

Portanto, sabe-se que o treinamento de voleibol gera estresse oxidativo, e que a NAC pode amenizar este estresse, com base nisto o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos de uma dose aguda (1200mg) da suplementação de NAC como possível modulador de um amplo número de marcadores de estresse oxidativo e de dano tecidual em atletas de voleibol submetidos a uma sessão intensa de treinamento da modalidade.

MATERIAS E MÉTODOS

Todos os programas foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Santa Catarina (UDESC), Brasil (obedecendo a Declaração de Helsinki), sob o número 246/2009.

Todos os 20 voluntários foram com idades entre 15 e 18 anos, não fumantes, atletas, homens saudáveis e os responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, autorizando-os a participar do estudo. Inicialmente os atletas foram submetidos a um protocolo progressivo em esteira (protocolo de Rampa) com medição direta do consumo de oxigênio, através de espirometria de circuito aberto, avaliados os parâmetros cardiovasculares: frequência cardíaca (bpm), pressão arterial (mmHg), registro eletromiográfico e parâmetros ventilatórios, em um Ergopneumotest, marca Erich-Jaeger.

Todos os voluntários foram separados aleatoriamente para grupo controle (n=10) e experimental (n=10) de maneira duplo-cega, destes 6 do grupo controle e 1 do grupo experimental desistiram do estudo ou não conseguiram cumprir com todas as exigências do protocolo. O grupo experimental tomou 600 mg de suplemento oral de NAC (Drozelev S/A, Brasil), uma 30 minutos antes do almoço (12h) e outra no início do treinamento de voleibol (14h). Ao longo do treino, os pesquisadores solicitaram aos voluntários se eles tinham experimentado efeitos colaterais da suplementação com NAC, como dores de cabeça ou dor abdominal. A sessão de treinamento durou 2,5 horas, sendo 2 horas

treinamento com bola na quadra de voleibol e os outros 30 minutos de treinamento resistido com aparelhos e pesos livres, sendo monitorado pela escala de Borg (1994) (a cada 15 minutos os atletas eram solicitados para verificação da intensidade do treino).

As amostras de sangue foram coletadas 30 minutos antes do início do período de exercício físico e imediatamente após o exercício, por um técnico laboratorial habilitado. A veia antecubital mediana foi puncionada pela inserção de uma agulha hipodérmica (25 x 7 mm) e o sangue foi coletado usando-se sistema a vácuo (Vacuntainer®) em um tubo contendo heparina sódica e em um tubo sem anticoagulante ou aditivos. O plasma e o soro foram obtidos imediatamente através de centrifugação do sangue (1000 x g, 15 min, 4 °C) e congelados a - 80 °C para a realização posterior das análises. O sangue foi utilizado para análise sérica de: (Glutathione Peroxidase (GPx), Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Total, Glutathione Reduzida (GSH), Capacidade Antioxidante (FRAP), TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), peróxidos lipídicos(LOOH), Proteína Carbonilada) e marcadores bioquímicos e de lesão tecidual (ALT (Alanina aminotransferase), AST (Aspartato Amino Transferase), Fosfatase Alcalina, LDH (Lactato Desidrogenase), CK (Creatina Quinase), Ácido Úrico, Creatinina e Uréia). Os ensaios bioquímicos foram realizados no Laboratório de Lipídeos, Aterosclerose e Estresse Oxidativo da Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis/SC.

Os métodos utilizados na determinação das enzimas antioxidantes (GPx, SOD, CAT, FRAP, TBARS, LOOH, Proteína Carbonilada) e a Glutathione Total e Glutathione Reduzida (GSH), ALT, AST, estão descritas em Moraes (2009), e a O Ácido Úrico foi determinado pelo método de Trinder baseado no sistema oxidase/peroxidase, utilizando-se o conjunto de reagentes Labtest

(Lagoa Santa-MG), de acordo com as instruções do fabricante. A Creatina Quinase (CK) foi quantificada no soro dos indivíduos utilizando-se o sistema de reação Labtest (Lagoa Santa-MG), através de método cinético, conforme as instruções do fabricante. A Lactato Desidrogenase (LDH): A LDH catalisa a interconversão do piruvato em lactato com NADH ou NAD atuando como cofatores, respectivamente.

Análise estatística

As diferenças foram avaliadas pelo teste t de Student ou teste de Mann-Whitney (comparação inter grupos; NAC vs. placebo) e pelo teste t pareado de Student ou teste de Wilcoxon (comparação intra grupos; pré vs. pós exercício). O nível de significância adotado foi de 5% (p<0.05). Os resultados dessas análises foram apresentados na forma de média ± desvio padrão da média ou de frequência (%). A análise estatística foi realizada empregando-se o programa SigmaStat, versão 2.03.

Limitações do estudo

Neste estudo houve uma grande morte amostral comprometendo o grupo placebo, limitando desta maneira os resultados.

RESULTADOS

Concluíram este estudo 18 atletas de voleibol com idade de 15,5±0,87 anos, VO₂pico 47,35±6,23 ml.kg⁻¹.min⁻¹, randomizados em grupo suplementação (n= 09) e placebo (n=4) (Tabela 1).

Os resultados referentes ao dano tecidual e marcadores bioquímicos (Tabela 2), mostram que a suplementação com uma única dose de NAC não alterou significativamente o percentual de variação dos parâmetros bioquímicos em relação à variação observada no grupo placebo promovida pelo exercício físico

Tabela 1: Caracterização dos grupos.

	Controle-Placebo	Experimental-NAC
Idade (anos)	15,5 ± 0,57	15,67 ± 1,12
IMC (kg/m ²)	22,32 ± 2,74	23,69 ± 4,61
VO ₂ pico (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	50,76 ± 7,0	45,96 ± 6,07
FC do Limiar 1	146 ± 9,2	148,7 ± 3,68
FC do Limiar 2	179,5 ± 4,65	177,7 ± 4,15

Os resultados estão expressos em média ± desvio-padrão e valores mínimos e máximos; Índice de Massa Corporal - IMC; Frequência cardíaca - FC.

Tabela 2. Efeito da suplementação aguda e de curto prazo (7 dias) com NAC 1200mg nos marcadores de dano tecidual (Variação percentual em relação ao pré-exercício)

Parâmetros	Agudo (Variação %)	
	Placebo	NAC
ALT	21,5 ± 65,3	1,1 ± 31,6
AST	85,5 (49,1-92,3)	21,6 (-18,7-73,3)
Fosfatase Alcalina	2,1 (1,7-6,9)	3,9 (2,3-5,8)
LDH	31,9 ± 6,0	24,4 ± 6,1 **
CK	36,5 (31,3-51,7)	35,1 (27,9-49,2)
Ácido Úrico	13,9 ± 7,7	-4,5 ± 19,9
Creatinina	13,0 (-10,2 - 33,1)	-2,4 (-10,3 - 4,5)
Uréia	1,6 ± 16,3	6,1 ± 21,5

Os resultados estão expressos como média ± desvio-padrão ou mediana e 25-75% (Intervalo de Confiança). *p < 0,05 **p < 0,08 (tendência) comparado ao placebo (teste t de Student ou teste de Mann-Whitney para comparações inter-grupos (NAC vs. Placebo); (teste t pareado de Student ou teste de Wilcoxon para comparações intra-grupos); ALT - Alanina aminotransferase; AST - Aspartato Aminotransferase; LDH – Lactato Desidrogenase; CK - Creatina Quinase;

DISCUSSÃO

Apesar de ter sido avaliado um amplo número de marcadores bioquímicos e de lesão tecidual (Alanina aminotransferase, Aspartato Aminotransferase, Fosfatase Alcalina, Lactato Desidrogenase, Creatina Quinase, Ácido Úrico, Creatinina e Uréia) e a Glutathione Total e Glutathione Reduzida, não verificamos nenhuma alteração significativa em nenhum destes marcadores quando comparados aos efeitos gerados pelo exercício sobre efeito de placebo, uma limitação deste estudo foi o tamanho do grupo placebo (n=9), mas resultados compatíveis foram verificados em estudo semelhante com exercício progressivo (análitos: CK, TNF- α e lactato) (Leelarungrayub e colaboradores, 2011).

O fato de uma única dose de 1200mg de NAC não ter sido suficiente para ter efeito antioxidante, frente a outros estudos (Leelarungrayub e colaboradores, 2011; Ferreira, Campbell e Reid, 2011; Kelly e colaboradores, 2009; Kerksick e Willoughby, 2005; Matuszczak e colaboradores 2005) onde após um mínimo de 3 dias de administração desta substância demonstraram tais efeitos, pode ter base no mecanismo dose-resposta, fato que foi exposto em estudo sobre a vitamina E (1600 UI/dia) em que a redução máxima do estresse oxidativo, não ocorreu antes de 16 semanas de suplementação (Roberts e colaboradores, 2007).

São poucos os trabalhos que se dedicaram em estudar efeitos de antioxidantes agudamente, valendo ressaltar o estudo de Valadão e colaboradores (Valadão e colaboradores, 2011) que encontraram

resultados que indicam que uma única dose de café aumenta a atividade de enzimas antioxidantes, melhorando a proteção contra o estresse oxidativo em ratos.

CONCLUSÃO

Este estudo mostra que a suplementação de 1200 mg/dia de N-acetilcisteína, não foi capaz de aumentar a biodisponibilidade de Glutathione reduzida e total no plasma dos atletas, nem de atenuar possíveis efeitos deletérios do exercício físico. Servindo como orientação a potenciais usuários que os possíveis efeitos protetivos não ocorrem com o uso de apenas uma dose de N-acetilcisteína.

Com base neste estudo fica evidente a necessidade de investigações de curto e longo prazo utilizando suplementação de NAC, para verificar se existe uma relação real entre dose-resposta.

REFERÊNCIAS

- 1- Borg, G.A.V.N. Perceived exertion. In: Wilmore, J.H. ed. Exercise and sports sciences reviews. 1974. Academic Press. p. 131 - 153.
- 2- Dreissigacker, U.; e colaboradores. Positive correlation between plasma nitrite and performance during high-intensive exercise but not oxidative stress in healthy men. Nitric Oxide, Vol. 23. Num. 2. 2010. p. 128-35.
- 3- Ferreira, L.F.; Campbell, K.S.; Reid, M.B. N-Acetylcysteine in Handgrip Exercise: Plasma Thiols and Adverse Reactions. International

Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, Vol.21. Num. 2. 2011. p. 146-154.

4- Gross, M.; Baum, O.; Hoppeler, H. Antioxidant supplementation and endurance training: Win or loss? European Journal of Sport Science, Vol.11. Num. 1. 2011. p. 27-32.

5- Kelly, M.K.; e colaboradores. Effects of N-acetylcysteine on respiratory muscle fatigue during heavy exercise. Respiratory Physiology & Neurobiology, Vol.165. Num.1. 2009. p.67-72.

6- Kerksick, C.; Willoughby, D. The Antioxidant Role of Glutathione and N-Acetyl-Cysteine Supplements and Exercise-Induced Oxidative Stress. Journal of the International Society of Sports Nutrition, 2005. p.2.

7- Kurkcu, R.; e colaboradores. The effects of regular exercise on oxidative and antioxidative parameters in young wrestlers. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, Vol. 4. Num. 5. 2010. p. 244-250.

8- Leelarungrayub, D.K.; R. Pothongsunun, P.; Klaphajone, J. N-Acetylcysteine Supplementation Controls Total Antioxidant Capacity, Creatine Kinase, Lactate, and Tumor Necrotic Factor-Alpha against Oxidative Stress Induced by Graded Exercise in Sedentary Men. 2011.

9- Leelarungrayub, D.; e colaboradores. N-Acetylcysteine Supplementation Controls Total Antioxidant Capacity, Creatine Kinase, Lactate, and Tumor Necrotic Factor-Alpha against Oxidative Stress Induced by Graded Exercise in Sedentary Men. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2011. p. 6.

10- Matuszczak, Y.; e colaboradores. Effects of N-acetylcysteine on glutathione oxidation and fatigue during handgrip exercise. Muscle & Nerve, Vol. 32. Num. 5. 2005. p. 633-638.

11- Medved, I.; e colaboradores. N-acetylcysteine enhances muscle cysteine and glutathione availability and attenuates fatigue during prolonged exercise in endurance-trained individuals. Journal of Applied Physiology, Vol.97. Num.4. 2004. p.1477-1485.

12- Morais, E.C.; Avaliação dos efeitos hipocolesterolêmico, antioxidante e antiinflamatório da infusão de erva-mate (*Ilex*

paraguariensis) em indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos, usuários ou não de estatina. Dissertação. 2009.

13- Myers, J. Exercise and Cardiovascular Health. Circulation, Vol.107. Num.1. 2003. p. 2-5.

14- Pinho, R.A.; Andrades, M.E.; Oliveira, M.R.; Pirola, A.C.; Zago, M.S.; Silveira, P.C.L.; Pizzol, F.D.; Moreira, J.C.F.; Imbalance in SOD/CAT activities in rats skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. Cellular Biology International. Vol. 30. 2006. p. 848-853.

15- Polidori, M.C.; e colaboradores. Physical activity and oxidative stress during aging. Int J Sports Med, Vol. 21. Num. 3. 2000. p. 154-7.

16- Powers, S.K.; Jackson, M.J. Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiological Reviews, Vol. 88. Num. 4. 2008. p. 1243-1276.

17- Powers, S.K.; Nelson, W.B.; Hudson, M.B. Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. Free Radical Biology and Medicine, Vol. 51. Num. 5. 2011. p. 942-950.

18- Roberts, L.J.; e colaboradores. The relationship between dose of vitamin E and suppression of oxidative stress in humans. Free Radic Biol Med. 2007.

19- Valadão, S.; e colaboradores. Increase of the Activity of Phase II Antioxidant Enzymes in Rats after a Single Dose of Coffee. Journal Agric Food Chem. 2011. p. 4.

20- Silva, L.A.; e colaboradores. N-acetylcysteine supplementation and oxidative damage and inflammatory response after eccentric exercise. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, Vol. 18. Num. 4. 2008. p. 379-388.

21- Zhang, Z.S.; H. M.; Zhang, Q. F.; Ong, C. N. Critical role of GSH in silica-induced oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity in macrophages. Am. J. Physiol. Vol. 277. 1999. p.743-748.

Recebido para publicação 13/12/2011
Aceito em 26/02/2012