

## Efeito da suplementação com ácido $\alpha$ -lipóico no estresse oxidativo nos tecidos cardíaco e hepático de camundongos treinados em endurance submetidos a um exercício exaustivo

### Effect of $\alpha$ -lipoic acid supplementation on oxidative stress of heart and liver tissues of endurance-trained mice submitted to an exhaustive exercise

Letícia Santana Wolf<sup>1</sup> , Álisson de Carvalho Gonçalves<sup>2</sup> , Ruan Carlos Macedo de Moraes<sup>3</sup> , Ana Carolina Nunes Rodrigues<sup>4</sup> , Susana Merino<sup>5</sup> , Guilherme Vannucchi Portari<sup>6</sup> 

1. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil
2. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Urutaí, Urutaí, GO, Brasil
3. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil
4. Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brasil
5. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil
6. Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brasil

#### RESUMO

**Introdução:** O exercício de alta intensidade promove um aumento na produção de espécies reativas, o que pode ser prejudicial para a saúde e função de diversos órgãos. **Objetivo:** Analisar o efeito da suplementação com ácido  $\alpha$ -lipóico contra o estresse oxidativo no coração e no fígado de camundongos treinados em endurance submetidos a uma sessão de exercício exaustivo. **Métodos:** Trinta e dois camundongos machos foram submetidos a 6 semanas de treinamento em natação. Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a suplementação, ácido  $\alpha$ -lipóico ou veículo, oferecida durante as duas últimas semanas. A última sessão do treinamento foi destinada ao exercício de exaustão. Foram analisadas a peroxidação lipídica, dano oxidativo às proteínas e marcador antioxidante no fígado e coração imediatamente (0h) e quatro horas (4h) após o exercício exaustivo nos dois grupos. **Resultados:** O coração dos animais suplementados apresentou menor dano proteico e maiores níveis de antioxidante nas 0h e 4h. No fígado, a peroxidação lipídica foi maior nos animais suplementados em 0h, mas não diferiu 4h após a exaustão. O fígado dos animais suplementados apresentou níveis mais altos de proteína carbonilada nas 0h e nas 4h. **Conclusão:** A suplementação com ácido  $\alpha$ -lipóico é um antioxidante eficiente para o coração de camundongos treinados submetidos a um exercício exaustivo, mas é desnecessário para evitar o estresse oxidativo hepático induzido pelo esforço exaustivo.

**Palavras-chave:** exercício físico; estresse oxidativo; antioxidante.

#### ABSTRACT

**Introduction:** High intensity exercise causes an increase in reactive oxygen species production, which can be harmful to the health and function of several organ tissues. **Objective:** To analyze the effect of supplementation with  $\alpha$ -lipoic acid against the oxidative stress in the heart and liver of endurance-trained mice submitted to the exhaustive endurance exercise bout. **Methods:** Thirty-two male mice were submitted to 6-week endurance swimming training, and divided in two groups according to supplementation protocol,  $\alpha$ -lipoic acid or vehicle, during the last two weeks. The last training session was destined to the exhaustive exercise bout. It was analyzed the lipid peroxidation, oxidative damage to proteins and antioxidant marker in liver and heart immediately (0h) and four-hours (4h) after the exhaustive exercise in both groups. **Results:** The heart of supplemented animals showed a lower protein damage and higher levels of antioxidant in 0h and 4h. In the liver, lipid peroxidation was higher in supplemented animals in 0h but did not differ 4h after the exhaustion. The liver of supplemented animals showed higher levels of carbonylated protein in both 0h and 4h. **Conclusion:** The  $\alpha$ -lipoic acid supplementation is an efficient antioxidant to the heart of trained mice submitted to exhaustive exercise but is unnecessary to avoid exhaustion-induced oxidative stress in the liver.

**Keywords:** physical exercise; oxidative stress, lipoic acid.

Recebido em: 15 de junho de 2020; Aceito em: 4 de maio de 2021.

Correspondência: Guilherme Vannucchi Portari, Av. Getúlio Guaritá, 159/121 Abadia, 38025-440 Uberaba MG, guilherme.portari@uftm.edu.br

## Introdução

O metabolismo aeróbio é a principal fonte endógena das espécies reativas de oxigênio (EROs). A fosforilação oxidativa produz muitos ânions superóxidos, que podem formar outras espécies reativas, como peróxido de hidrogênio e radical hidroxila [1]. Porém, em condições fisiológicas, as EROs são neutralizadas por um complexo sistema antioxidante endógeno, que é composto por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. As moléculas antioxidantes são extremamente importantes para evitar danos oxidativos aos componentes celulares, como proteínas, ácidos nucleicos e lipídios [2,3].

Sessões de exercícios físicos de alta intensidade ou extenuantes causam um aumento expressivo na produção de EROs [1]. Além do exercício ser um potencial estímulo para desencadear a produção de EROs, a literatura tem demonstrado que um programa de treinamento físico adequado tem um efeito protetor contra o dano oxidativo, uma vez que potencializa o sistema antioxidante [4]. Contudo, tem sido demonstrado que a alta produção de EROs e o comprometimento do sistema antioxidante podem limitar a adaptação e o desempenho ao exercício [1,5]. A exposição crônica a altos níveis de EROs pode diminuir significativamente a atividade do sistema antioxidante enzimático (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase etc.) e a concentração de antioxidante não enzimático (coenzima Q10, glutathione, vitamina C e E, ácido lipóico etc.), prejudicando a função celular devido aos danos, apoptose e necrose [2].

O dano oxidativo do exercício em músculos treinados tem sido amplamente estudado, uma vez que o músculo é o órgão mais recrutado durante uma sessão de exercícios. Porém, outros órgãos têm sua atividade aumentada durante e imediatamente após uma sessão de exercícios, principalmente o coração e o fígado [6,7]. Estudos têm mostrado alterações negativas no estado redox do coração e do fígado após exercícios extenuantes [8,9]. Felizmente, tem-se estudado estratégias nutricionais capazes de prevenir e/ou reduzir o dano oxidativo e, conseqüentemente, reduzir o estresse físico, dores musculares e prejuízos ao desempenho esportivo [10]. Alguns estudos demonstram que a ingestão de moléculas antioxidantes exógenas tem efeitos positivos contra o dano oxidativo induzido pelo exercício [8,11].

O ácido  $\alpha$ -lipóico é um cofator para as enzimas mitocondriais envolvidas no metabolismo energético e desempenha um importante papel na neutralização de EROs e na quelação de metais [12]. O ácido  $\alpha$ -lipóico tem sido considerado um antioxidante universal por atuar tanto na fase aquosa quanto na membrana, trabalhando em sinergia com outros antioxidantes (como a glutathione, a vitamina C e a vitamina E). Além disso, pode reciclar alguns antioxidantes, como o ácido ascórbico, a glutathione (GSH) e a vitamina E [12,13]. Estudos demonstraram que a suplementação com ácido  $\alpha$ -lipóico pode melhorar a defesa antioxidante e reduzir o dano oxidativo no tecido muscular após uma sessão de exercícios [14,15].

Assim, o presente estudo teve como objetivo analisar o efeito da suplementação com ácido  $\alpha$ -lipóico contra o estresse oxidativo no coração e no fígado de camundongos treinados em *endurance* submetidos a uma sessão de exercício exaustivo.

## Métodos

### *Animais*

Trinta e dois camundongos (*Mus musculus*) Swiss, machos, de 6 semanas de idade foram alocados em dois grupos experimentais de acordo com a intervenção: 1) Grupo veículo (VEH) (n = 16): animais submetidos a treinamento físico e que não receberam suplementação; 2) Grupo suplementado (SUP) (n = 16): animais submetidos ao treinamento físico e que receberam suplementação. Os animais foram alojados em gaiolas plásticas, em ciclo circadiano invertido (12 h escuro/claro), em  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $55 \pm 5\%$  de umidade com ração e água encanada ad libitum, no biotério do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM). O protocolo experimental foi previamente autorizado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFTM, sob o protocolo número 219/12.

### *Protocolo de suplementação*

O ácido  $\alpha$ -lipóico (Zhejiang Chemicals, China) foi diluído (1 mg/mL) em uma solução de veículo (10% dimetilsulfóxido (DMSO) em óleo de soja). A solução foi administrada por gavagem (100 mg/kg/dia) durante os últimos sete dias do protocolo de treinamento físico, apenas nos animais do SUP. O VEH recebeu o mesmo volume da solução veículo, nos últimos sete dias do protocolo de treinamento físico.

### *Protocolo de treinamento de exercício*

O protocolo de treinamento físico foi aplicado conforme proposto por Sampaio-Barros *et al.* [16]. A primeira semana foi destinada à aclimatação ao protocolo de treinamento físico. Os animais foram submetidos ao treinamento de natação por 5 minutos no primeiro dia, 15 minutos no segundo, 30 minutos no terceiro dia, 45 minutos e 60 minutos no quarto e quinto dia, respectivamente. Em seguida, os animais foram submetidos diariamente a uma sessão de natação, 5 dias por semana, 60 min por sessão, durante 6 semanas. A sessão de treinamento foi aplicada em grupos de 5 animais com o objetivo de aumentar a intensidade do exercício [16]. Os animais nadaram em um recipiente plástico de 22 cm de diâmetro e 60 cm de altura, com água a uma profundidade de 40 cm, mantida a  $32^\circ\text{C}$  ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ), controlado por aquecedor com termostato automático (HOPAR SA-333 Zhong Shan, China).

A última sessão do treinamento foi dedicada à teste de exercício exaustivo. Os animais foram submetidos a uma sessão individual de natação com carga metálica correspondente a 10% do peso corporal fixada na porção proximal da cauda. Os animais foram considerados exaustos quando não conseguiram sustentar o focinho acima da água por 8 segundos [17].

### *Coleta e preparação de amostras*

Os animais foram sacrificados por decapitação após serem anestesiados com cetamina (80 mg/kg) e xilazina (5 mg/kg) imediatamente após (0h) o exercício exaustivo (n = 8) e quatro horas após (4h) o exercício exaustivo (n = 8). Após a confirmação da eutanásia, o fígado e o coração foram imediatamente excisados, lavados em solução salina e imediatamente congelados em nitrogênio líquido. Após congelados, os órgãos foram armazenados a -20°C até o momento das análises. Para a execução das análises, alíquotas de tecido cardíaco e hepático foram homogeneizadas com tampão fosfato 25 mM pH 7,4 (1:100 w/vol) imediatamente antes do início das análises.

### *Determinação de proteínas carboniladas*

A concentração de proteínas carboniladas foi determinada pelo método proposto por Odetti *et al.* [18]. O tecido homogeneizado (100 mL) foi vigorosamente misturado a 100 µL de ácido tricarbóxico 20% (TCA) e, em seguida, centrifugado durante 10 minutos a 3500 rpm. O sobrenadante foi descartado e 500 µL de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) 10mM, diluído em HCl 2M, foram adicionados ao precipitado. A solução foi incubada por 1 hora em temperatura ambiente, no escuro, com agitação a cada 15 min. Em seguida, foi adicionado 1 mL de etanol-acetato de etila (1:1 vol/vol) e a solução foi centrifugada por 10 min a 3500 rpm a 4°C. O etanol-acetato de etila foi removido e o sedimento foi suspenso em 2 mL de guanidina 6M. A solução de proteína-guanidina foi mantida em banho-maria a 34°C por 15 min. A solução final foi lida em espectrofotometria ajustada em 370 nm, e o coeficiente de extinção molar de 22.000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> foi utilizado para calcular a concentração de carbonila.

### *Determinação da peroxidação lipídica*

A peroxidação lipídica foi avaliada pela concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com Buege e Austi [19]. Foi adicionado 1 mL de reagente TCA-TBA-HCL a 500 µL de homogenato de tecido. A solução foi mantida por 15 minutos em água fervente (100°C). Após o resfriamento, a solução foi centrifugada por 10 minutos a 10000 g. A absorbância do sobrenadante foi lida por espectrofotometria, a 535 nm. A concentração de TBARS foi determinada usando equação da curva de calibração obtida por uma reação semelhante, usando solução comercial de malondialdeído.

### *Determinação de tióis não proteicos*

A concentração de tióis não proteicos foi medida por método colorimétrico, usando a reação do grupo sulfidríla com 5,5'-ditytiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB). O homogenato de tecido foi desproteínizado pela adição de 10% de TCA. Foram adicionados 200 µL de Tris 0,2 M-EDTA 0,02 M, 300 µL de DTNB e 1,6 mL de metanol a 100 µL de sobrenadante de homogenato de tecido. A solução foi incubada por 15 min em temperatura ambiente e no escuro. Em seguida, a absorbância foi lida em espectrofotômetro ajustado para comprimento de onda de 412 nm. A concentração

de tióis não proteicos foi determinada usando equação da curva de calibração obtida por reação semelhante com solução comercial de GSH [20].

### Análise estatística

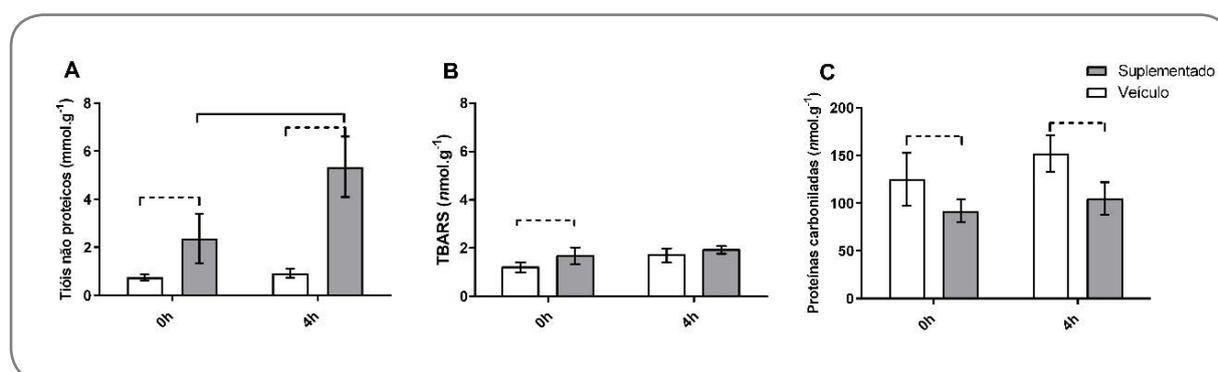
Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados foram analisados no software SPSS 20.0. Para verificar a igualdade das variâncias e a distribuição dos dados, foram aplicados os testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente. Os dados foram comparados pela análise de variância (ANOVA) *two-way* e *post hoc* de Tukey. Foi adotado nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

## Resultados

O tecido cardíaco do grupo VEH apresentou menor concentração de tióis não proteicos no tempo 0 h em comparação com 4h. Da mesma forma, o coração dos animais suplementados apresentou maior concentração de tióis não proteicos em 4h em relação ao tempo 0h. O grupo SUP apresentou maior concentração de tióis não proteicos do que o VEH em ambos os períodos experimentais (0h e 4h) (Figura 1A).

O tecido cardíaco do grupo SUP apresentou maior concentração de TBARS em comparação ao grupo VEH no tempo 0h. No entanto, a concentração de TBARS não foi diferente entre os grupos no tempo de 4h. A concentração de TBARS no tecido cardíaco de ambos os grupos não se alterou ao longo do tempo experimental (0h a 4h) (Figura 1B).

Nos tempos 0h e 4h, o tecido cardíaco do grupo SUP apresentou menor concentração de proteínas carboniladas do que o grupo VEH. Tanto o grupo SUP quanto o grupo VEH não apresentaram diferença entre os períodos experimentais (Figura 1C).



A = Tióis não proteicos; B = Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico TBARS; C = Proteínas carboniladas. As colunas brancas representam o grupo VEH. As colunas cinzas representam o grupo SUP. O conector pontilhado indica uma variação intergrupo estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) no mesmo tempo (SUP vs. VEH). O conector completo indica uma variação intragruppo estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) em momentos diferentes (0h vs. 4h)

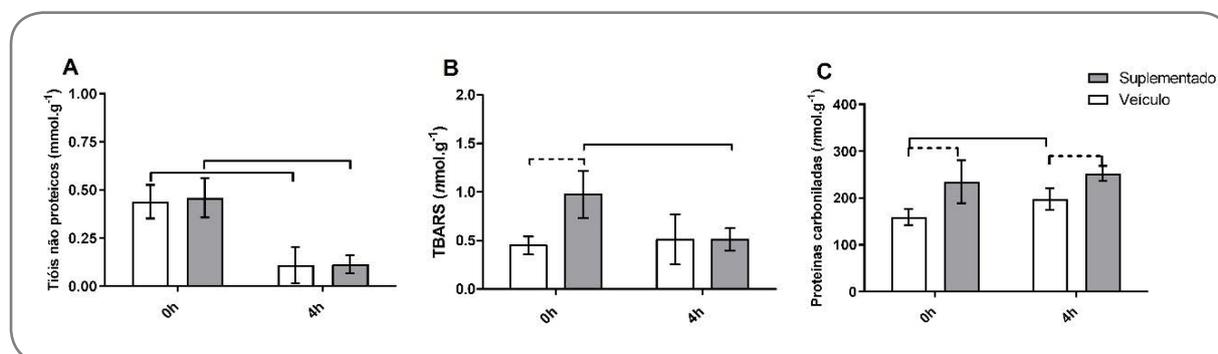
**Figura 1** - Marcadores de estresse oxidativo no tecido cardíaco

No fígado, a concentração de tióis não proteicos no tempo 0h foi maior do que no tempo 4h em ambos os grupos SUP e VEH. Não houve diferença entre os grupos

nos dois tempos experimentais (0h e 4h) (Figura 2A).

Nos animais suplementados, a concentração de TBARS no tecido hepático apresentou redução significativa 4 horas após o exercício exaustivo. A concentração de TBARS hepática do grupo VEH não diferiu ao longo do tempo experimental. Imediatamente após sessão de exercício exaustivo (0h), a concentração de TBARS mostrou-se maior no grupo SUP do que no grupo VEH. Porém, não houve diferença entre os grupos 4 horas após o exercício exaustivo (Figura 2B).

A concentração de proteínas carboniladas do grupo SUP foi superior ao VEH em ambos os tempos experimentais (0h e 4h). O fígado dos animais não suplementados apresentou maior concentração de proteínas carboniladas no tempo 4h em relação ao 0h. Não foi encontrada diferença no dano oxidativo às proteínas entre os tempos 0h e 4h (Figura 2C).



A = Tióis não proteicos; B = Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico TBARS; C = Proteínas carboniladas. As colunas brancas representam o grupo VEH. As colunas cinzas representam o grupo SUP. O conector pontilhado indica uma variação intergrupo estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) no mesmo tempo (SUP vs. VEH). O conector completo indica uma variação intragrupo estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) em momentos diferentes (0h vs. 4h)

**Figura 2** - Marcadores de estresse oxidativo no tecido hepático

## Discussão

O presente estudo teve como objetivo avaliar como a suplementação de ácido  $\alpha$ -lipóico afeta o estresse oxidativo induzido por exercício exaustivo no coração e fígado de animais treinados em *endurance*. Foram encontradas alterações positivas nos marcadores de estresse oxidativo no tecido cardíaco dos animais suplementados, principalmente quatro horas após o exercício exaustivo. No entanto, a suplementação com ácido  $\alpha$ -lipóico parece estar relacionada ao aumento do dano oxidativo no fígado.

As EROs desempenham um papel essencial na sinalização e função celular [21]. O aumento da concentração de EROs no miocárdio afeta sua estrutura e funções, como estimulação da hipertrofia cardíaca e apoptose dos cardiomiócitos, contribuindo assim para a remodelação cardíaca [22]. Visto que a melhoria da eficiência cardíaca é uma das adaptações mais importantes ao exercício, a presença de níveis moderados de EROs parece ser necessária. No entanto, o ataque excessivo das EROs às macromoléculas pode ser prejudicial à função celular e pode levá-las à apoptose [23].

Assim, o equilíbrio entre a capacidade antioxidante e a atividade pró-oxidante deve ser considerado para a manutenção da saúde cardíaca e do desempenho esportivo de indivíduos engajados em programas de treinamento físico.

Durante um esforço exaustivo, o trabalho cardíaco é altamente solicitado. A demanda energética do miocárdio é suprida principalmente pelo metabolismo aeróbio [24]. Assim, o tecido cardíaco é submetido a intenso ataque de espécies reativas, uma vez que o metabolismo mitocondrial é a principal fonte de EROs. No entanto, estudos não demonstraram aumento no dano oxidativo no coração de animais treinados em *endurance* [25,26]. O presente estudo também não encontrou aumento nos marcadores de dano oxidativo no tecido cardíaco quatro horas após a exaustão em relação aos resultados obtidos imediatamente após o esforço exaustivo.

O ácido  $\alpha$ -lipóico poderia ter mitigado os efeitos prejudiciais do dano oxidativo induzido pela exaustão nas proteínas do coração. O tecido cardíaco dos animais suplementados apresentou menor concentração de proteína carbonilada, o que indica menor dano oxidativo às proteínas. Isso pode estar relacionado à maior concentração de antioxidantes no animal suplementado. No entanto, resultados semelhantes não puderam ser observados no marcador de peroxidação lipídica do tecido cardíaco. Apesar da concentração de TBARS nos animais suplementados ser ligeiramente maior do que nos animais não suplementados imediatamente após o esforço, os valores não foram diferentes quatro horas depois. É possível que o exercício exaustivo de natação não foi um estímulo suficiente para induzir a peroxidação lipídica no tecido cardíaco dos camundongos treinados. Concordando, foi demonstrado que o exercício exaustivo de *endurance* é capaz de alterar alguns marcadores de estresse oxidativo no tecido cardíaco de ratos treinados para *endurance*, mas não o marcador de peroxidação lipídica [27].

Os tióis não proteicos, que são moléculas antioxidantes, apresentaram-se em níveis mais elevados no miocárdio dos animais suplementados em ambos os tempos experimentais (0h e 4h). O ácido  $\alpha$ -lipóico tem conhecido efeito potencial para recuperar e/ou melhorar outras moléculas e mecanismos antioxidantes, que podem estar relacionados à alta concentração de antioxidantes, principalmente GSH [12], a principal representante dos tióis não proteicos [28].

Embora os músculos esqueléticos e o miocárdio sejam amplamente utilizados durante um esforço extenuante e prolongado, o trabalho do fígado também tem um aumento significativo nesta situação [6]. Alguns trabalhos têm mostrado aumentos nos marcadores de dano oxidativo no tecido hepático após exercícios exaustivos de *endurance* [6,29]. Vários estudos mostraram os efeitos antioxidantes do ácido  $\alpha$ -lipóico no fígado [30-32]. Um estudo experimental descobriu que a administração de ácido  $\alpha$ -lipóico foi eficaz na redução da peroxidação lipídica e na preservação da atividade da glutatona peroxidase e da concentração de GSH no fígado de ratos submetidos a doses tóxicas de paracetamol [31]. Em ratos não treinados, foi demonstrado que a suplementação com ácido  $\alpha$ -lipóico é capaz de proteger as células do fígado contra o dano oxidativo dos lipídios promovido por exercícios extenuantes [30].

No presente estudo, foi observada redução expressiva na concentração hepática de antioxidantes quatro horas após o exercício exaustivo em ambos os grupos. Curiosamente, a concentração de antioxidantes em 0h e 4h não foi diferente entre os grupos. Esses dados indicam que apesar do ácido  $\alpha$ -lipóico desempenhar um papel importante na reciclagem de antioxidantes [12], ele não é capaz de aumentar a concentração de tióis não proteicos imediatamente após uma exaustiva sessão de *endurance* no tecido hepático de camundongos treinados. Além disso, o protocolo de suplementação não foi capaz de manter a concentração de antioxidantes ao longo das quatro horas após a exaustão.

É importante destacar que a concentração de tióis não proteicos sofreu redução significativa quatro horas após o esforço exaustivo, em ambos os grupos experimentais. Isso indica que as mudanças nos marcadores de estresse oxidativo continuam a mudar por algumas horas após o esforço exaustivo. Vários estudos [33-35] mostraram que o estresse oxidativo induzido pelo exercício pode ser observado por um longo tempo após o exercício. Em humanos, foi demonstrado que a capacidade antioxidante foi menor 24 horas após do que imediatamente após uma sessão de exercícios extenuantes [33].

Houve um aumento modesto no dano oxidativo às proteínas do fígado do grupo VEH. No entanto, a concentração de proteínas carboniladas manteve-se maior nos grupos SUP em ambos os períodos experimentais. Isso pode estar relacionado ao mecanismo antioxidante do ácido  $\alpha$ -lipóico. O ácido lipóico e o ácido dihidrolipóico (DHHLA) (produzidos a partir do ácido  $\alpha$ -lipóico) são reativos aos tióis das proteínas [12]. Além disso, o DHHLA é capaz de acelerar a geração de radical hidroxila dependente de ferro e a peroxidação lipídica [13]. Possivelmente, o mesmo resultado não foi observado no coração porque a concentração de ferro no tecido hepático é expressivamente maior do que no miocárdio [36]. Além disso, as células do fígado têm alta capacidade de captação e acúmulo de metabólitos do ácido  $\alpha$ -lipóico, como DHHLA e lipoato [37].

Imediatamente após o exercício, o fígado dos animais não suplementados sofreu menos peroxidação lipídica. A concentração de TBARS no fígado apresentou uma redução modesta 4 horas após o esforço apenas nos animais suplementados, mas a concentração de TBARS não foi diferente dos animais não suplementados. Assim, o ácido  $\alpha$ -lipóico parece não afetar o estresse oxidativo induzido pelo exercício exaustivo no tecido hepático de camundongos treinados. O nível de treinamento dos camundongos pode estar relacionado à ineficiência do protocolo de suplementação proposto neste estudo. Navarro *et al.* [38] mostraram que o treinamento físico moderado, por si só, diminui o estresse oxidativo no fígado de camundongos de meia-idade. Outro estudo [39] apontou que o treinamento de *endurance* promove adaptações hepáticas que podem atenuar o estresse oxidativo induzido por exercício exaustivo, tornando a suplementação antioxidante uma estratégia desnecessária contra o estresse oxidativo no fígado.

## Conclusão

A suplementação com ácido  $\alpha$ -lipóico é eficaz para aumentar a capacidade antioxidante e reduzir o dano oxidativo no tecido cardíaco de camundongos treinados após um esforço exaustivo. No entanto, o ácido  $\alpha$ -lipóico não consegue manter os níveis de antioxidantes no tecido hepático e está relacionado a um aumento do dano oxidativo. Assim, a suplementação com ácido  $\alpha$ -lipóico é uma estratégia eficaz para evitar o estresse oxidativo induzido pela exaustão no coração de camundongos treinados, mas não no tecido hepático.

### Potencial conflito de interesse

Nenhum conflito de interesses com potencial relevante para este artigo foi reportado.

### Fontes de financiamento

Não houve fontes de financiamento externas para este estudo.

### Contribuição dos autores

**Concepção e desenho da pesquisa:** Santana LF, Merino S, Portari GV. **Obtenção de dados:** Santana LF, Merino S, Gonçalves AC, Rodrigues ACN, Moraes RCM. **Análise e interpretação dos dados:** Gonçalves AC, Rodrigues ACN, Moraes RCM, Portari GV. **Análise estatística:** Gonçalves AC, Moraes RCM. **Redação do manuscrito:** Santana LF, Gonçalves AC, Moraes RCM. **Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante:** Portari GV.

## Referências

1. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 2008;88(4):1243-76. doi: 10.1152/physrev.00031.2007
2. Carocho M, Ferreira IC. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol* 2013;51:15-25. doi: 10.1016/j.fct.2012.09.021
3. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2006;8(9-10):1865-79. doi: 10.1089/ars.2006.8.1865
4. Simioni C, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, Sacchetti G, Gonelli A, et al. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget* 2018;9(24):17181. doi: 10.18632/oncotarget.24729
5. Reid MB. Redox interventions to increase exercise performance. *J Physiol* 2016;594(18):5125-33. doi: 10.1113/jp270653
6. Huang C-C, Lin W-T, Hsu F-L, Tsai P-W, Hou C-C. Metabolomics investigation of exercise-modulated changes in metabolism in rat liver after exhaustive and endurance exercises. *Eur J Appl Physiol* 2010;108(3):557-66. doi: 10.1007/s00421-009-1247-7
7. Oláh A, Németh BT, Mátyás C, Horváth EM, Hidi L, Birtalan E, et al. Cardiac effects of acute exhaustive exercise in a rat model. *Int J Cardiol* 2015;182:258-66. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.12.045
8. Carvalho AG, Moreira EJS, Portari GV. Benfotiamine supplementation prevents oxidative stress in anterior tibialis muscle and heart. *J Integr Med* 2019; 17(6):423-429. doi: 10.1016/j.joim.2019.07.001
9. Yan F, Wang B, Zhang Y. Polysaccharides from *Cordyceps sinensis* mycelium ameliorate exhaustive swimming exercise-induced oxidative stress. *Pharm Biol* 2014;52(2):157-61. doi: 10.3109/13880209.2013.820197
10. Pingitore A, Lima GPP, Mastorci F, Quinones A, Iervasi G, Vassalle C. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition* 2015;31(7-8):916-22. doi: 10.1016/j.nut.2015.02.005
11. Abadi A, Crane JD, Ogborn D, Hettinga B, Akhtar M, Stokl A, et al. Supplementation with  $\alpha$ -lipoic acid, CoQ10, and vitamin E augments running performance and mitochondrial function in female mice. *PLoS One*. 2013;8(4):e60722. doi: 10.1371/journal.pone.0060722
12. Moini H, Packer L, Saris N-EL. Antioxidant and prooxidant activities of  $\alpha$ -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002;182(1):84-90. doi: 10.1006/taap.2002.9437
13. Scott BC, Aruoma OI, Evans PJ, O'Neill C, Van Der Vliet A, Cross CE, et al. Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic Res* 1994;20(2):119-33. doi: 10.3109/10715769409147509

14. Chae C-H, Shin C-H, Kim H-T. The combination of  $\alpha$ -lipoic acid supplementation and aerobic exercise inhibits lipid peroxidation in rat skeletal muscles. *Nutr Res* 2008;28(6):399-405. doi: 10.1016/j.nutres.2008.02.010
15. Kinnunen S, Oksala N, Hyyppä S, Sen CK, Radak Z, Laaksonen DE, et al.  $\alpha$ -Lipoic acid modulates thiol antioxidant defences and attenuates exercise-induced oxidative stress in standardbred trotters. *Free Radic Res* 2009;43(8):697-705. doi: 10.1080/10715760903037673
16. Sampaio-Barros MM, Farias-Silva E, Grassi-Kassisse DM, Spadari-Bratfisch RC. Effect of swimming session duration and repetition on metabolic markers in rats. *Stress* 2003;6(2):127-132. doi: 10.1080/1025389031000110169
17. Voltarelli FA, Gobatto CA, De Mello MA: Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res* 2002;5(11):1389-94. doi: 10.1590/s0100-879x2002001100018
18. Odetti P, Giribaldi S, Gurreri G, Aragno I, Dapino D, Pronzato MA, et al. Protein oxidation in hemodialysis and kidney transplantation. *Metabolism* 1996;45(11):1319-22. doi: 10.1016/s0026-0495(96)90108-0
19. Buege J, Aust S. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978;52:302-10. doi: 10.1016/s0076-6879(78)52032-6
20. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968;25:192-205. doi: 10.1016/0003-2697(68)90092-4
21. Hancock J, Desikan R, Neill S. Role of reactive oxygen species in cell signaling pathways. *Biochem Soc Trans* 2001;29(2):345-9. doi: 10.1042/bst0290345
22. Takimoto E, Kass DA. Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling. *Hypertension* 2007;49(2):241-8. doi: 10.1161/01.hyp.0000254415.31362.a7
23. Biary N, Xie C, Kauffman J, Akar FG. Biophysical properties and functional consequences of reactive oxygen species (ROS) induced ROS release in intact myocardium. *J Physiol* 2011;589(21):5167-79. doi: 10.1113/jphysiol.2011.214239
24. Khouri EM, Gregg DE, Rayford CR. Effect of exercise on cardiac output, left coronary flow and myocardial metabolism in the unanesthetized dog. *Circ Res* 1965;17(5):427-37. doi: 10.1161/01.res.17.5.427
25. Frankiewicz-Józko A, Faff J, Sieradzian-Gabelska B. Changes in concentrations of tissue free radical marker and serum creatine kinase during the post-exercise period in rats. *Eur J Appl Physiol* 1996;74(5):470-4. doi: 10.1007/s004210050101
26. Stanojevic D, Jakovljevic V, Barudzic N, Zivkovic V, Srejovic I, Ilic KP, et al. Overtraining does not induce oxidative stress and inflammation in blood and heart of rats. *Physiol Res* 2016;65(1). doi: 10.33549/physiolres.933058
27. Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, et al. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2006;143(2):239-45. doi: 10.1016/j.cbpa.2005.12.001
28. Dickinson DA, Forman HJ. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol* 2002;64(5-6):1019-26. doi: 10.1016/s0006-2952(02)01172-3
29. Korivi M, Hou C-W, Huang C-Y, Lee S-D, Hsu M-F, Yu S-H, et al. Ginsenoside-Rg1 protects the liver against exhaustive exercise-induced oxidative stress in rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012;2012. doi: 10.1155/2012/932165
30. Khanna S, Atalay M, Laaksonen DE, Gul M, Roy S, Sen CK.  $\alpha$ -Lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. *J Appl Physiol* 1999;86(4):1191-6. doi: 10.1152/jappl.1999.86.4.1191
31. Abdel-Zaher AO, Abdel-Hady RH, Mahmoud MM, Farrag MM. The potential protective role of alpha-lipoic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage. *Toxicology* 2008;243(3):261-70. doi: 10.1016/j.tox.2007.10.010
32. Maritim A, Sanders R, Watkins Iii J. Effects of  $\alpha$ -lipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr Biochem* 2003;14(5):288-94. doi: 10.1016/s0955-2863(03)00036-6
33. Neubauer O, Koenig D, Kern N, Nics L, Wagner K-H. No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40(12):2119-28. doi: 10.1016/s0162-0908(09)79565-0
34. Meihua S. The time effect of DNA damage and oxidative stress on mice liver cells induced by exercise fatigue. In: *Education Management, Education Theory and Education Application*. Springer 2011:661-7. doi: 10.1007/978-3-642-24772-9-96
35. Gonçalves AC, Rodrigues LR, Terra MP, Sasaki JE, Portari GV. Exercício aeróbio exaustivo aumenta o estresse oxidativo em corredores fundistas treinados. *Rev Bras Prescrição Fisiol Exerc* 2019;13(83):493-500.
36. Petry CD, Eaton MA, Wobken JD, Mills MM, Johnson DE, Georgieff MK. Iron deficiency of liver, heart, and brain in newborn infants of diabetic mothers. *J Pediatr* 1992;121(1):109-114. doi: 10.1016/S0022-3476(05)82554-5
37. Bustamante J, Lodge JK, Marcocci L, Tritschler HJ, Packer L, Rihn BH.  $\alpha$ -Lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic Biol Medic* 1998;24(6):1023-39. doi: 10.1016/S0891-5849(97)00371-7
38. Navarro A, Gomez C, López-Cepero JM, Boveris A. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol* 2004;286(3):R505-11. doi: 10.1152/ajpregu.00208.2003
39. Taysi S, Oztasan N, Efe H, Polat M, Gumustekin K, Siktar E, et al. Endurance training attenuates the oxidative stress due to acute exhaustive exercise in rat liver. *Acta Physiol Hung* 2008;95(4):337-47. doi: 10.1556/aphysiol.95.2008.4.2