

Avaliação de fatores preditivos de estresse oxidativo em pessoas saudáveis

Luciana de Souza Ondeí ^{1*}
Fabrício Barreto Teresa ¹
Claudia Regina Bonini-Domingos ²

¹ Universidade Estadual de Goiás, Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas (UnUCET)
BR-153, nº 3.105, CEP 75132-903, Anápolis – GO, Brasil

² Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas
Departamento de Biologia, Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas
Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth, CEP 15054-000, São José do Rio Preto – SP, Brasil

* Autor para correspondência
luciana.ondei@ueg.br

Submetido em 17/05/2013
Aceito para publicação em 16/04/2014

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de fatores como tabagismo, consumo de álcool, uso de medicamentos, contato com produtos químicos, bem como idade e gênero sobre marcadores de estresse oxidativo, em indivíduos saudáveis. Verificou-se o efeito da idade sobre a capacidade antioxidante, com diminuição dos valores em indivíduos mais velhos, o que pode ser a causa do aumento de estresse oxidativo, associado ao envelhecimento. Para os demais fatores, não foram encontradas diferenças nos valores do marcador de peroxidação lipídica e da capacidade antioxidante.

Palavras-chave: Antioxidantes; Consumo de álcool; Gênero; Idade; Tabagismo

Abstract

Evaluation of predictive factors for oxidative stress in healthy people. This study aimed to evaluate the influence of factors such as smoking, alcohol consumption, use of medicines, contact with chemicals, as well as age and gender on markers of oxidative stress, in healthy subjects. We checked the effect of age on the antioxidant capacity, with decreased values in older individuals, which may be the cause of increased oxidative stress, associated with aging. Regarding the other factors, no differences were found in the values of the marker of lipid peroxidation and the antioxidant capacity.

Key words: Age; Alcohol consumption; Antioxidants; Gender; Smoking

Introdução

O organismo humano está constantemente sujeito aos efeitos nocivos de agentes pró-oxidantes que são gerados naturalmente, como parte integrante dos processos fisiológicos, ou que são produzidos por alguma disfunção biológica (LEE et al., 1998; BARREIROS et al., 2006). Grande parte da energia produzida no organismo é gerada por meio da fosforilação oxidativa, a qual ocorre na mitocôndria. Durante este processo, podem ser geradas espécies reativas de oxigênio (ERO), como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) que sofre dismutação e forma o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que pode ainda reagir e formar o radical hidroxila (HO^{\cdot}) (CADENAS; DAVIES, 2000).

Também existem diversas fontes exógenas de produção de ERO e espécies reativas de nitrogênio (ERN) como raios UV, radiação ionizante, quimioterápicos, xenobióticos. As principais ERO distribuem-se em dois grupos, os radicalares: (HO^{\cdot}), ($O_2^{\cdot-}$), peroxila (ROO^{\cdot}) e alcoxila (RO^{\cdot}); e os não radicalares: oxigênio (O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HClO). Dentre as ERN incluem-se o óxido nítrico (NO^{\cdot}), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos ($ONOO^-$) (BARREIROS et al., 2006).

Em condições normais, as células possuem macro e micromoléculas de origem endógena, ou exógena, que estão envolvidas na detoxificação celular (SHARMA et al., 2000). O sistema de defesa antioxidante pode atuar antes que ocorra a lesão causada pela ação dos radicais livres ou espécies não radicalares, por meio da ação da glutatona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona-peroxidase (GSH-Px) e vitamina E, ou então, para reparar a lesão ocorrida, por meio da ação do ácido ascórbico, glutatona-redutase (GSH-Rd), GSH-Px, entre outros. Com exceção da vitamina E, que é um antioxidante estrutural da membrana, a maior parte dos agentes antioxidantes está no meio intracelular (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

O sistema de defesa antioxidante é dividido em não-enzimático e enzimático. O não-enzimático inclui especialmente os antioxidantes obtidos na dieta entre

os quais se destacam vitaminas, minerais e compostos fenólicos e o enzimático que inclui a grande família de enzimas conhecida como citocromo P450 (CYPs) as quais convertem moléculas hidrofóbicas em substâncias mais solúveis para a excreção, além da SOD, CAT e GSH-Px (SHARMA et al., 2000; BERNARDINI et al., 2005). A SOD, presente em quase todas as células, é considerada a primeira linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênio e catalisa a conversão do $O_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 e oxigênio. Este, por sua vez, reage produzindo outras ERO, as quais são degradadas em água e oxigênio por enzimas como a CAT e a GSH-Px, sendo que esta última utiliza a GSH como agente redutor (BERLETT; STADTMAN, 1997; FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

O estado oxidativo da célula é decorrente do equilíbrio entre os agentes oxidantes (ciclo redox) e o sistema de defesa antioxidante (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; FIBACH; RACHMILEWITZ, 2008). A condição de estresse oxidativo ocorre quando este equilíbrio é quebrado devido à depleção de antioxidantes e/ou aumento da formação de agentes pró-oxidantes além da capacidade das defesas antioxidantes (PANDEY; RIZVI, 2010). As substâncias envolvidas no binômio antioxidante-pró-oxidante caracterizam o ambiente redox biológico e podem ser quantificadas por diversas metodologias laboratoriais. O balanço redox do indivíduo pode ser associado a diferentes aspectos ambientais, demográficos, étnicos, culturais, clínicos e nutricionais, sendo uma importante ferramenta no estudo de fenômenos biológicos vinculados ao estresse oxidativo (VASCONCELOS et al., 2007).

Quando a produção de agentes pró-oxidantes supera a capacidade antioxidante, se favorece a oxidação de biomoléculas, gerando metabólitos específicos derivados da oxidação de lipídeos, proteínas e DNA, conhecidos como marcadores de estresse oxidativo, que podem ser identificados e quantificados. Para caracterizar o estresse oxidativo é importante avaliar os danos causados por ERO e ERN, por meio de técnicas específicas como a determinação de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) e quantificar a defesa antioxidante por meio das enzimas antioxidantes (como a SOD, CAT, GSH-Px), do sistema antioxidante

não enzimático (com destaque para a GSH) e/ou da capacidade antioxidante total (VASCONCELOS et al., 2007).

O estresse oxidativo tem grande importância no processo de envelhecimento, transformação e morte celular, com consequências diretas em muitos processos patológicos, entre eles, câncer, doenças auto-imunes, cardiopatias, doenças do pulmão, hipertensão arterial sistêmica, Alzheimer, Parkinson, estados tóxicos causados por álcool, fumo, e outras (JACOB et al., 2013). Por outro lado, as ERO e ERN desempenham papéis fisiológicos importantes como o controle da pressão sanguínea, na sinalização celular, na apoptose, na fagocitose de agentes patogênicos, na fertilização de óvulos e na ativação de genes (BERLETT; STADTMAN, 1997; VASCONCELOS et al., 2007).

Os mecanismos anti e pró-oxidantes são alvos de vários estudos e a investigação dos fatores que podem influenciar no estresse oxidativo está relacionada com a melhoria da qualidade de vida do ser humano (VASCONCELOS et al., 2007). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi investigar se fatores como idade, gênero, tabagismo, álcool e contato com produto químico correlacionam-se com o estresse oxidativo em indivíduos saudáveis.

Material e Métodos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNESP/IBILCE e foi desenvolvido obedecendo aos princípios éticos estabelecidos na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), sob protocolo número 0008.0.229.000-06.

Nas análises envolvendo a peroxidação lipídica, marcador de dano oxidativo, foram utilizadas 389 amostras de sangue periférico de indivíduos saudáveis, universitários e doadores de sangue, provenientes da região Noroeste do estado de São Paulo, colhidas por punção venosa, após consentimento informado. Destas, 103 foram utilizadas nas análises da capacidade antioxidante. O menor número de amostras para as quais foram obtidos os valores para o marcador de capacidade antioxidante deveu-se a limitações operacionais para o armazenamento de parte das amostras.

Para a avaliação da peroxidação lipídica foi realizada a dosagem plasmática de TBARS que é baseada na reação do malondialdeído e outros aldeídos com o ácido tiobarbitúrico (TBA) em pH baixo e temperatura elevada, para formar um complexo com absorção máxima em 535 nm. Valores até 440 ng/mL são considerados normais (MIHARA; UCHIYAMA, 1978; PERCARIO et al., 2004). Para as análises, o sangue foi coletado em tubo heparinizado e permaneceu por 20 min em descanso, sob Banho Maria a 38°C. Após esse período, foi centrifugado a 1500 rpm, durante 20 min, para a separação do plasma. Para a quantificação de TBARS, foram utilizados 500 µL de plasma e as análises foram realizadas segundo Percário et al. (2004).

A capacidade antioxidante das amostras (TEAC) foi determinada segundo a sua equivalência ao Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametacromono-2-carboxílico), um antioxidante análogo sintético hidrossolúvel da vitamina E. A técnica colorimétrica é baseada na reação entre o ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolínaácido-6-sulfônico-diamônio) com persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$) que produz o radical cation $ABTS^{+}$, cromóforo de coloração verde/azul. A adição de amostras contendo antioxidantes a este radical cátion pré-formado o reduz novamente a ABTS e a descoloração é avaliada por meio de espectrofotometria em 734 nm. Para a determinação de TEAC, foram utilizados 30 µL de plasma e a metodologia foi realizada de acordo com Miller et al. (1993) e Re et al. (1999). Os valores de normalidade considerados foram de 1,85 a 2,31 mM/L, segundo Ondei et al. (2009).

Os dados referentes às variáveis preditoras foram obtidos por meio de informações fornecidas pelos indivíduos que responderam a um questionário fornecido pelo pesquisador. As variáveis preditoras foram hábito de fumar (fumante/não fumante), consumo de álcool (sim/não), contato com produto químico (sim/não), uso de medicamentos (sim/não), gênero (masculino/feminino) e idade (agrupada em categorias de 16 a 25, 26 a 35, 36 a 45 e 46 ou mais anos). As classes de idade foram formadas para representar o gradiente de idade amostrado, assim como para possibilitar a formação de grupos com número de amostras que viabilizasse as análises inferenciais.

Para avaliar se os valores dos marcadores de estresse oxidativo (TBARS e TEAC) variam em função das diferenças relacionadas ao gênero, tabagismo, álcool, contato com produtos químicos e utilização de medicamentos utilizou-se o *Teste t independente*. A comparação dos valores de marcadores de estresse oxidativo entre as classes de idade foi realizada por meio da Análise de Variância (ANOVA), complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey.

Resultados

A idade média do grupo utilizado nas análises de TBARS foi de 34 anos, variando de 16 a 62 anos, sendo 130 (33,4%) pessoas do gênero feminino e 259 (66,5%) do gênero masculino. Cinquenta e oito (14,9%) indivíduos alegaram ser fumantes, enquanto que 331 (85,1%) alegaram ser não fumantes; 213 (54,8%) alegaram que consumiam bebida alcoólica e 176 (45,2%) alegaram que não consumiam bebida alcoólica; 103 (26,5%) alegaram que mantinham contato com produto químico e 286 (73,5%) alegaram que não tinham contato com produto químico; 45 (11,6%) tomavam algum medicamento e 344 (88,4%) alegaram que não tomavam.

O valor médio de TBARS encontrado foi igual a 270,2 ng/mL \pm 119,3 (variando de 34 a 720 ng/mL),

sendo que 40 amostras (10,3%) apresentaram valores acima da normalidade. Os resultados de TBARS separados por fator modulador estão apresentados na Tabela 1. Os valores de TBARS não diferiram em relação às variáveis avaliadas: idade, gênero, tabagismo, consumo de álcool, contato com produto químico e uso de medicamentos ($p > 0,17$).

A idade média do grupo utilizado nas análises de TEAC foi de 30 anos, variando de 18 a 62 anos, sendo 44 (42,7%) pessoas do gênero feminino e 59 (57,3%) do gênero masculino. Dez (9,7%) indivíduos alegaram ser fumantes, enquanto que 93 (90,3%) alegaram que não eram fumantes; 66 (64,1%) alegaram consumir bebida alcoólica e 37 (35,9%) alegaram que não consumiam; 40 (38,8%) alegaram que tinham contato com produto químico e 63 (61,2%) alegaram que não tinham contato com produto químico; 21 (20,4%) alegaram que tomavam medicamentos e 82 (79,6%) alegaram que não tomavam medicamentos.

Para as medidas de TEAC o valor médio foi de 2,14 mM/L \pm 0,11 (variando de 1,85 a 2,36) sendo que quatro (3,9%) amostras apresentaram valores acima da normalidade. Os resultados de TEAC separados por fator modulador estão apresentados na Tabela 1. Os valores de TEAC não diferiram em relação ao gênero, tabagismo, consumo de álcool, contato com produto

TABELA 1: Valores de TBARS e TEAC, separados por fatores moduladores, apresentados como média \pm desvio padrão, sendo o $p \leq 0,05$.

| Parâmetros | TBARS (ng/mL) N=389 | TEAC (mM/L) N=103 |
|---------------------------------------|------------------------|----------------------|
| 16 a 25 anos | 272,4 \pm 127,3 | 2,17 \pm 0,10 |
| 26 a 35 anos | 265,2 \pm 112,9 | 2,14 \pm 0,11 |
| 36 a 45 anos | 268,5 \pm 116,9 | 2,08 \pm 0,11 |
| Acima de 45 anos | 277,6 \pm 122,5 | 2,09 \pm 0,11 |
| Mulheres | 264,2 \pm 121,5 | 2,13 \pm 0,11 |
| Homens | 273,2 \pm 118,3 | 2,14 \pm 0,11 |
| Fumantes | 272,1 \pm 113,4 | 2,17 \pm 0,11 |
| Não fumantes | 269,9 \pm 120,4 | 2,13 \pm 0,11 |
| Ingere bebida alcoólica | 273,5 \pm 112,6 | 2,15 \pm 0,10 |
| Não ingere bebida alcoólica | 266,2 \pm 127,1 | 2,12 \pm 0,11 |
| Tem contato com produtos químicos | 284,1 \pm 115,7 | 2,14 \pm 0,10 |
| Não tem contato com produtos químicos | 265,2 \pm 120,3 | 2,14 \pm 0,11 |
| Usa medicamentos | 292,5 \pm 125,6 | 2,16 \pm 0,12 |
| Não usa medicamentos | 267,3 \pm 118,3 | 2,13 \pm 0,10 |

N = número de amostras.

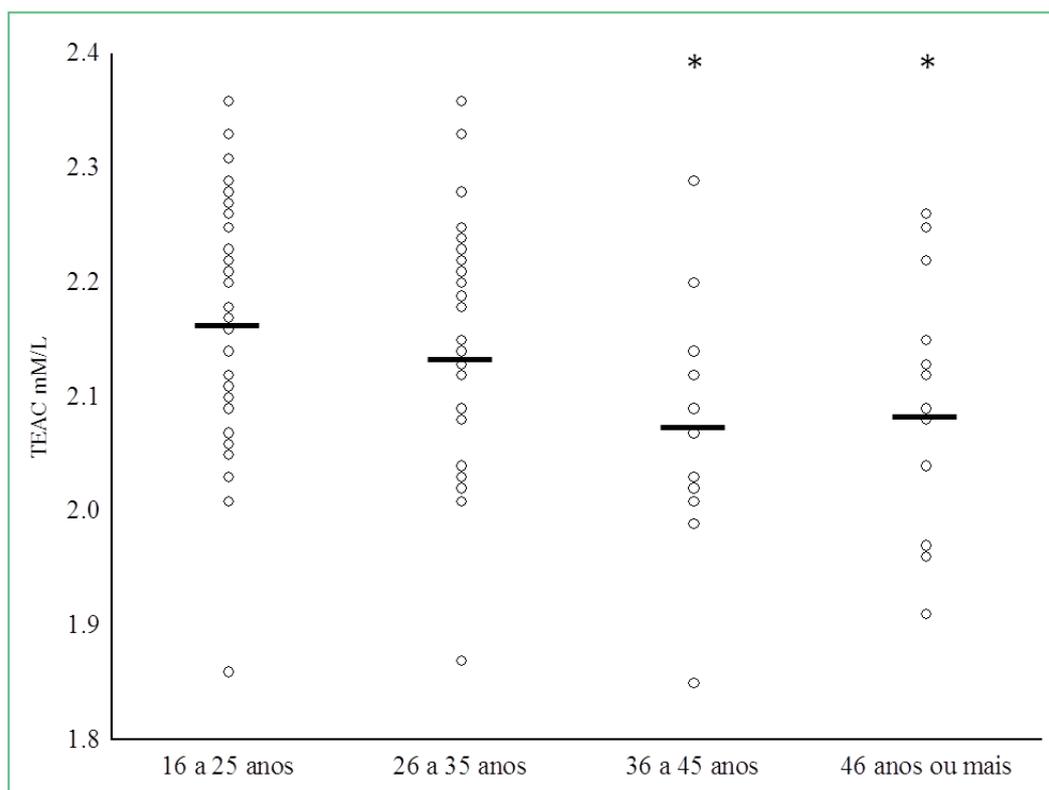
químico e uso de medicamentos ($p > 0,33$). Também não foi encontrada relação direta do gênero com as demais variáveis preditoras ($p > 0,07$). No entanto, verificou-se efeito da idade ($p = 0,03$) (Figura 1). O grupo de 16 a 25 anos apresentou valor de TEAC semelhante ao do grupo de 26 a 35 anos ($p = 0,20$), mas superior aos dos grupos de 36 a 45 anos e 46 anos ou mais ($p < 0,03$). Os valores de TEAC não diferiram entre os demais grupos ($p > 0,14$) (Figura 1).

Discussão

Diversos métodos têm sido empregados para a avaliação de estresse oxidativo. Dentre eles, a dosagem plasmática de TBARS é um importante biomarcador de danos oxidativos causados por ERO e ERN. As análises que envolvem a capacidade antioxidante também contribuem para a avaliação do balanço redox, sendo o TEAC um dos métodos utilizados para a avaliação de antioxidantes lipossolúveis e hidrossolúveis

(VASCONCELOS et al., 2007). No presente trabalho não foram encontradas diferenças nos valores de TBARS com relação aos fatores endógenos avaliados (idade e gênero) e de TEAC com relação ao gênero. Era esperado um aumento nos valores de TBARS com o aumento da idade devido ao acúmulo de oxidação dos lipídeos, bem como de ácidos nucleicos, proteínas e açúcares. A ausência de relação entre envelhecimento e peroxidação lipídica pode ser devido à ação de outros fatores, como estilo de vida e nutrição. No entanto, os maiores valores de TEAC encontrados entre as amostras de indivíduos mais jovens indica a redução da capacidade antioxidante total dependente da idade, o que pode estabelecer a condição de estresse oxidativo decorrente da depleção de antioxidantes (PANDEY; RIZVI, 2010). O aumento do estresse oxidativo representado pelos resultados de TEAC associado à idade pode ser devido a três fatores: aumento na taxa de geração de ERO; declínio nas defesas antioxidantes e diminuição na eficiência de remoção ou reparo de moléculas que causam disfunção celular e propensão aos efeitos deletérios por agentes externos

FIGURA 1: Valores de TEAC (mM/L) em relação às categorias de idade. A barra horizontal indica a média e o asterisco diferença estatisticamente significativa em relação às amostras de 16 a 25 anos, sendo $p \leq 0,05$.



(SOHAL; WEINDRUCH, 1996; JACOB et al., 2013). Desta forma, a capacidade antioxidante plasmática é um bom biomarcador para avaliar o estado e o potencial de estresse oxidativo durante o envelhecimento, reforçando a importância da sua avaliação como um preditor de estresse oxidativo no processo de envelhecimento (PANDEY; RIZVI, 2010).

Também foi investigada a associação de fatores exógenos como possíveis moduladores de estresse oxidativo. Porém, não houve efeito do tabagismo, consumo de álcool, uso de medicamentos e contato com produto químico sobre os valores de TBARS e TEAC. O fumo é capaz de alterar os níveis de peroxidação lipídica, oxidar proteínas e causar danos ao DNA, pois a fumaça do cigarro contém ERO e ERN potencialmente deletérias, principalmente aos lipídeos (PARK et al., 1998). Em fumantes também se encontram reduzidos os níveis de vitamina C e E e o hábito de fumar correlaciona-se positivamente com os níveis dos marcadores de peroxidação lipídica (TBARS), no entanto, pode existir variação dependendo do número de cigarros, método de aferição dos marcadores e tipo de amostra utilizada (plasma, soro, saliva, urina) (LYKKESLELDT, 2007). Essa variação pode explicar os resultados encontrados no presente trabalho, em que não houve efeito do tabagismo sobre os marcadores avaliados, sendo necessário um maior refinamento das informações como número de cigarros consumidos e tempo de exposição.

Embora não tenha sido encontrado efeito do consumo de álcool sobre os valores de TBARS e TEAC, tem sido demonstrado que o consumo de álcool exerce efeito sobre os níveis plasmáticos de vitaminas e minerais antioxidantes, causando redução nas concentrações plasmáticas de tocoferol, ácido ascórbico e selênio, além de aumento de danos oxidativos em indivíduos alcoólatras (LECOMTE, 1994). Desta forma, seria importante a avaliação de TBARS e TEAC considerando a quantidade de álcool consumido. Diversos outros fatores podem desencadear o processo de estresse oxidativo. No presente trabalho, o uso de medicamentos, de forma geral, e o contato com produtos químicos não interferiram nos marcadores avaliados, embora alguns trabalhos tenham demonstrado que os xenobióticos, substâncias estranhas ao organismo, possam interferir

no balanço redox (VASCONCELOS et al., 2007; BARBOSA et al., 2010). Os anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs), por exemplo, induzem a geração de radicais superóxido (LI et al., 2008).

Assim, os resultados obtidos neste estudo evidenciam que o envelhecimento está relacionado com a instalação do processo de estresse oxidativo, provavelmente devido à redução da quantidade de antioxidantes. Fatores exógenos e outros fatores endógenos como gênero não influenciam o estresse oxidativo quando abordados em escala binária. Entretanto, um maior refinamento na avaliação dos fatores moduladores de estresse oxidativo pode ser informativo, uma vez que perfis individuais podem mascarar o efeito das variáveis associados ao aumento de estresse oxidativo.

Agradecimentos

Os autores agradecem a dois revisores anônimos cujas críticas e sugestões colaboraram para a melhoria do manuscrito. FBT é bolsista do Programa de Bolsa de Incentivo à Pesquisa e Produção Científica (PROBIP/UEG).

Referências

- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-126, 2006.
- BERLETT, B. S.; STADTMAN, E. R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 272, n. 33, p. 20313-20316, 1997.
- BERNARDINI, S.; BELLINCAMPI, L.; BALLERINI, S.; FEDERICI, G.; IORI, R.; TREQUATTRINI, A.; CIAPPI, F.; BALDINETTI, F.; BOSSÙ, P.; CALTAGIRONE, C.; SPALLETTA, G. Glutathione S-Transferase PI *C allelic variant increases susceptibility for late-onset Alzheimer Disease: association study and relationship with Apolipoprotein E e4 allele. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 51, n. 6, p. 944-951, 2005.
- CADENAS, E.; DAVIES, K. J. A. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. **Free Radical Biology and Medicine**, Indianapolis, v. 29, n. 3-4, p. 222-230, 2000.

- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- FIBACH, E.; RACHMILEWITZ, E. The role of oxidative stress in hemolytic anemia. **Current Molecular Medicine**, Sharjah, v. 8, n. 7, p. 609-619, 2008.
- JACOB, K. D.; HOOTEN, N. N.; TRZECIAK, A. R.; EVANS, M. K. Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related Disease. **Mechanisms of Ageing and Development**, Amsterdam, v. 134, p. 139-157, 2013.
- LECOMTE, E.; HERBETH, B.; PIROLLET, P.; CHANCERELLE, Y.; ARNAUD, J.; MUSSE, N.; PAILLE, F.; SIEST, G.; ARTUR, Y. Effect of alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 60, n. 2, p. 255-261, 1994.
- LEE, G. R.; BITHELL, T. C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J. W.; LUKENS, J. N. **Wintrobe's Clinical Hematology**. 10 ed. Pennsylvania: Sastache, 1998. 2719 p.
- LI, H.; HORTMANN, M.; DAIBER, A.; OELZE, M.; OSTAD, M. A.; SCHWARZ, P. M.; XU, H.; XIA, N.; KLESCHYOV, A. L.; MANG, C.; WARNHOLTZ, A.; MÜNZEL, T.; FÖRSTERMANN, U. Cyclooxygenase 2-selective and nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs induce oxidative stress by up-regulating vascular NADPH oxidases. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Bethesda, v. 326, n. 3, p. 745-753, 2008.
- LYKKESLELDT, J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 380, n. 1-2, p. 50-58, 2007.
- MIHARA, M.; UCHIYAMA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Analytical Biochemistry**, Amsterdam, v. 86, p. 271-278, 1978.
- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, London, v. 84, p. 407-412, 1993.
- ONDEI, L. S.; SILVEIRA, L. M.; LEITE, A. A.; SOUZA, D. R.; PINHEL, M. A.; PERCÁRIO, S.; RICCI JÚNIOR, O.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Lipid peroxidation and antioxidant capacity of G6PD-deficient patients with A-(202G>A) mutation. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 8, n. 4, p. 1345-1352, 2009.
- PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, New York, v. 3, n. 1, p. 2-12, 2010.
- PARK, E. M.; PARK, Y. M.; GWAK, Y.S. Oxidative damage in tissues of rats exposed to cigarette smoke. **Free Radical Biology & Medicine**, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 79-86, 1998.
- PERCÁRIO, S.; VITAL, A. C. C.; JABLONKA, F. Dosagem do malondialdeído (TBARS). **NewsLab**, São Paulo, v. 6, p. 46-50, p. 2004.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical acton decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, Amsterdam, v. 26, p. 1231-1237, 1999.
- SHARMA, R.; AWASTHI, S.; ZIMNIAK, P.; AWASTHI, Y. C. Transport of glutathione-conjugates in human erythrocytes. **Acta Biochimica Polonica**, Warszawa, v. 47, n. 3, p. 751-762, 2000.
- SOHAL, R. S.; WEINDRUCH, R. Oxidative Stress, Caloric Restriction, and Aging. **Science**, Washington, v. 273, n. 5271, p. 50-63, 1996.
- VASCONCELOS, S. M. R.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.