

Resposta de duas sessões de natação sobre parâmetros de estresse oxidativo em nadadores

Response of two swimming session on oxidative stress parameters in swimmers

Luciano Acordi da Silva ¹
Luis Gustavo Costa da Rocha ¹
Débora Scheffer ¹
Fernanda Schreiver Soares ¹
Cleber Aurino Pinho ¹
Adriano B. Polizelli ¹
Paulo Cesar Lock Silveira ¹
Ricardo Aurino Pinho ¹

Resumo – O objetivo do presente estudo foi investigar a resposta aguda de duas sessões de natação sobre parâmetros de estresse oxidativo em indivíduos fisicamente ativos. Doze sujeitos homens (28±7anos, 1,75±0.08m, 72.9±9kg) com experiência em natação superior a um ano de treinamento realizaram duas sessões de natação, 1 hora por sessão, com intervalo de 12 horas. Foram coletadas amostras de sangue da veia cubital 24 horas antes de prova (C1), imediatamente após a primeira sessão (C2) e segunda sessão (C3) e 24 horas após o término da prova (C4). Foram analisados as atividades da Creatina Quinase (CK), os níveis lipoperoxidação, carbonilação de proteínas e conteúdo total de tióis a atividade da catalase. Os resultados mostram um aumento na atividade da CK (1143.8 ± 254.2 U/L) nos níveis de lipoperoxidação (3.01± 0.54 nmol/TBARS/mg proteína) e carbonilação de proteínas (3.01±0.54 nmol/mg de proteína) e uma diminuição no conteúdo total de tióis (17.09±3.31 nmol TNB/mg proteína) imediatamente após a segunda sessão de natação em comparação a pré-prova (111.2±33.2 U/L; 1.68±0.34 nmol/TBARS/mg proteína; 1.68±0.34 nmol/mg de proteína; 26.8±3.08 nmol TNB/mg de proteína) respectivamente. A atividade da catalase aumentou após as duas sessões (C2; 2.5±0.35 U/mg proteína; C3; 2.5±0.47 U/mg proteína) em comparação a pré-prova (C1; 1.5±0.35 U/mg proteína). Em conclusão, somente a segunda sessão de natação alterou os parâmetros de estresse oxidativo.

Palavras-chave: Natação; Estresse oxidativo; Radicais livres.

Abstract – This study investigated the acute effect of two swimming sessions on oxidative stress markers in trained individuals. Twelve male volunteers, students from UNESC (Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Santa Catarina, Brazil), with a mean age of 28 ± 7 years, initial weight of 72.9 ± 9 kg and height of 1.75 ± 0.08 cm, participated in the study. Blood samples were collected 24 hours before the sessions, immediately after the first and second session, and 24 hours after the end of the sessions. Aliquots were washed, red blood cells were lysed and plasma samples were stored at -80 oC until the time of the biochemical assays. Creatine kinase (CK) activity, lipid peroxidation level, protein carbonylation, thiol content and catalase activity were determined. The results showed a significant increase in CK, lipoperoxidation and protein carbonylation and a decrease in thiol content after the second swimming session (p<0.05) compared to pre-swimming levels. Catalase activity increased after the first and second swimming sessions. The main finding of the present study was that only the second swimming session resulted in oxidative stress.

Key words: Swimming; Oxidative stress; Free radicals.

¹ Universidade do Extremo Sul Catarinense. Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde. Laboratório de fisiologia e bioquímica do Exercício. Criciúma. Santa Catarina. Brasil.

Recebido em 19/06/08
Revisado em 07/11/08
Aprovado em 19/11/08

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, diversos estudos demonstram a influência do exercício físico sobre a produção das Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) em tecidos biológicos¹⁻³. Conforme Sastre et al.⁴, o exercício físico promove o estresse oxidativo somente quando é exaustivo. Então, é importante distinguir entre o exercício não exaustivo, o qual não acompanha o estresse oxidativo, e o exercício exaustivo o qual causa estresse oxidativo.

Vários mecanismos estão envolvidos na produção de ERO durante o exercício. A maioria dos oxidantes produzidos durante as contrações musculares são devido ao aumento no consumo de O₂ na cadeia respiratória⁵. Contudo, outros mecanismos de produção das ERO durante o exercício também são importantes, como a ativação da xantina oxidase, alteração da homeostase de cálcio, isquemia e reperfusão, ativação de células inflamatórias⁶⁻⁸.

Durante o exercício, o consumo de O₂ para produção aeróbica de ATP pode aumentar de 10 a 20 vezes em relação aos níveis de repouso⁹, causando um aumento concomitante na produção das ERO. Quando o aumento das ERO excede a capacidade de defesa antioxidante das células, pode causar dano na estrutura do DNA, oxidar proteínas, lipídios e carboidratos, caracterizando o fenômeno celular denominado de estresse oxidativo.

Vários estudos em humanos têm delineado os efeitos do exercício e do treinamento físico sobre parâmetros estresse oxidativo⁹⁻¹². Embora a literatura seja vasta neste sentido, faltam estudos que esclareçam a resposta de duas sessões de exercícios exaustivos de natação, sem um tempo de recuperação adequado.

Neste sentido, a proposta do presente estudo foi investigar o efeito agudo de duas sessões (1 hora duração cada sessão) de exercício exaustivo de natação sobre marcadores de estresse oxidativo em sujeitos fisicamente ativos.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Participaram do estudo 12 (doze) indivíduos voluntários, não atletas, do sexo masculino, com idade média de 28±7 anos, com experiência mínima na prática em natação de 24 meses (Tabela 1). Foram excluídos do estudo os sujeitos que utilizavam algum tipo de medicação, suplementos nutricionais, que estavam realizando algum programa de treinamento de exercício físico paralelo ou nos últimos seis

meses, fumantes que apresentassem histórico de lesão muscular ou portadores de alguma doença que pudesse comprometer os resultados ou ser agravada pela prática do exercício físico. Todos os participantes preencheram o Termo de Consentimento Informado, que foi aprovado pelo comitê de ética local, conforme parecer n° 649/2007.

Tabela 1. Características antropométricas e fisiológicas.

	A1	A2	A3	A4	A5
Idade (anos)	28±7				
Altura (m)	1,75±0,08				
Peso (Kg)	72,9±9	72,2±8	71,5±9	71,3±9	
Frequência Cardíaca (Bpm)	64±8	94±19	129±15	95±21	134±12
SpO ₂ (mmHg)		98,1±0,7	96,3±1,6	97±2,2	94,3±4,7
Distancia (m)			2843±227		2844±387

Os indivíduos foram mensurados vinte quatro horas antes da prova (A1), imediatamente antes da 1ª sessão de nado (A2), logo depois da 1ª sessão de nado (A3), imediatamente antes da 2ª sessão de nado (A4) e logo depois da 2ª sessão de nado (A5). Todos os resultados foram expressos em média e erro padrão médio.

Protocolo do treinamento físico: Os indivíduos praticaram os treinamentos de natação no período da noite (22:00 as 23:30h), sessenta minutos por dia, três a quatro vezes por semana, em piscina coberta de 25 metros, com a temperatura da água em 28° graus. A distância diária percorrida no treino foi entre 2000m e 2500m.

Prova de natação: O estudo foi realizado na Universidade do Extremo Sul Catarinense durante o 2º Desafio Nadando Ainda Mais Rápido. O desafio consistiu em realizar um revezamento com 12 atletas por equipe tendo duração de 24 horas. Cada atleta nadou dois percursos com 01 hora de duração cada. O intervalo entre os percursos foi de 12 horas. Durante o período de repouso os indivíduos permaneceram numa sala apropriada na própria instituição. Durante o desafio de natação não foi utilizado nenhum suplemento, medicamento ou algum tipo de tratamento que pudesse acelerar a recuperação dos nadadores ou interferir nos resultados.

Controle alimentar: Durante o ultimo mês de treinamento os indivíduos receberam uma dieta nutricional balanceada e individualizada, contendo 55% a 65% do valor calórico total (VCT) carboidrato, 15% de proteína e 25% a 35% de lipídios. Na semana que antecede o evento, os atletas receberam orientações nutricionais a fim de garantir uma

elevação no aporte de carboidratos. A manipulação dietética consistiu em uma redução nos três primeiros dias para 50% do VCT de carboidrato, e nos quatro dias seguintes a dieta possuía em torno de 70% do VCT de carboidrato.

Coleta de sangue: As coletas aconteceram vinte e quatro horas antes da prova (C1), logo após a primeira sessão (C2), após a segunda sessão (C3) e vinte quatro horas após o término da prova (C4). Foram coletados 15mL de sangue da veia cubital do braço direito. O sangue foi coletado em tubos de vacutainer heparinizados e as frações (eritrócitos e plasma) foram separadas e estocadas imediatamente em freezer -80°C para posterior análises.

Parâmetro de performance

A performance foi avaliada pela maior distância percorrida durante as duas sessões de uma hora de nado continuamente. Os nadadores foram encorajados verbalmente a realizarem a maior distância durante os dois períodos.

Ensaios bioquímicos

Creatina Quinase (CK): Foi determinada em plasma com auxílio de kit específico fornecido pela Labtest Diagnóstica SA., seguindo as orientações técnicas observada na bula do referido kit.

Espécies reativas ao ácido Tiobarbitúrico (TBARS): Foi determinada em plasma como marcador de lipoperoxidação pela formação de substâncias reativas ao aquecimento do ácido tiobarbitúrico medido espectrofotometricamente (532nm), conforme descrito¹³.

Carbonilação de proteínas: Os danos oxidativos em proteínas foram determinados em plasma mensurados pela determinação de grupos carbonil, baseados na reação com dinitrofenilhidrazina como previamente descrito¹⁴. O conteúdo de carbonil foi determinado espectrofotometricamente em 370nm usando um coeficiente 22.0000 Molar¹.

Tióis totais: Foi determinada em plasma numa reação dos grupos tióis com 5,5'-ditióbis (2 ácido nitro-benzóico) (DTNB), gerando um derivado de coloração amarela e lido espectrofotometricamente a 412 nm¹⁵.

Catalase (CAT): A atividade da catalase (CAT) foi determinada nos eritrócitos pela taxa de decaimento do peróxido de hidrogênio lido em espectrofotometricamente a 240nm¹⁶.

Determinação da proteína: A quantidade de proteínas nos ensaios do TBA, CARBONIL, SUFIDRILA e CAT foram mensurados usando a técnica de Lowry et al.¹⁷.

Tratamento estatístico

Os dados foram expressos em média e erro padrão médio e analisados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) one-way, seguido pelo teste post hoc Bonferroni. O nível de significância estabelecido para o teste estatístico é de $p < 0,05$. Foi utilizado o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 15.0 como pacote estatístico.

RESULTADOS

Performance: Não houve diferença significativa na distância percorrida pelos nadadores entre a primeira ($2843 \pm 227\text{m}$) e a segunda ($2844 \pm 387\text{m}$) sessão de nado.

Creatina Kinase (CK): Os resultados (Tabela 2) demonstram um aumento na atividade da CK (plasma) logo após a segunda sessão de exercício ($1143,8 \pm 254,2 \text{ U/L}$) e vinte quatro horas após o término da prova ($795,9 \pm 208,1 \text{ U/L}$), quando comparado à pré-prova ($111,2 \pm 33,2 \text{ U/L}$).

Tabela 2. Atividade da Creatina Quinase (CK) e Catalase (CAT).

	C1	C2	C3	C4
CK (U/L)	114,2 ± 33	348,7 ± 162	1143,8 ± 254*	795,9 ± 208*
CAT U/mg proteína	1,5 ± 0,35	2,5 ± 0,48*	2,5 ± 0,47*	2,1 ± 0,35

As coletas foram mensuradas e descritas de acordo com materiais e métodos. Os valores são apresentados em Média ± EPM e os resultados de CK foram expressos em (U/L) e a atividade da CAT (U/mg de proteína). A diferença significativa encontrada em relação à primeira coleta (*) foi de $p < 0,05$.

Lipoperoxidação: Na Figura 1, os resultados mostram um aumento nos níveis de lipoperoxidação no plasma, logo após a segunda sessão de exercício ($3,01 \pm 0,54 \text{ nmol/TBARS/mg proteína}$), quando comparado à pré-prova ($1,68 \pm 0,34 \text{ nmol/TBARS/mg proteína}$).

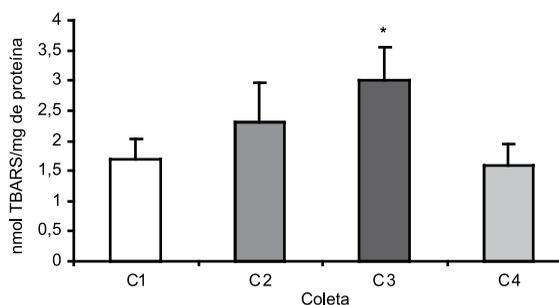


Figura 1. As Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas de acordo com materiais e métodos. Os valores são apresentados em Média ± EPM e os resultados foram expressos em (nmol TBARS/mg de proteína). A diferença significativa encontrada em relação à primeira coleta (*) foi de $p < 0,05$.

Carbonilação de proteína (CP): Os resultados mostram (Figura 2) um aumento na CP no plasma, após a segunda sessão de exercício ($3,01 \pm 0,54$ nmol/mg de proteína), em comparação à pré-prova ($1,68 \pm 0,34$ nmol/mg de proteína).

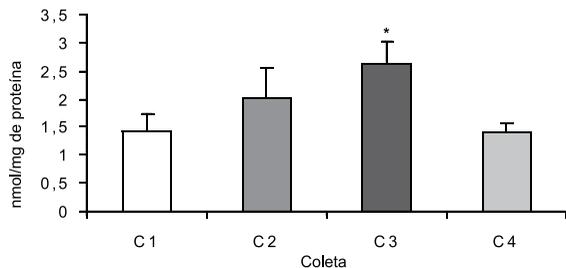


Figura 2. A carbonilação de proteína foi determinada de acordo com materiais e métodos. Os valores são apresentados em Média±EPM e os resultados foram expressos em (nmol/mg de proteína). A diferença significativa foi encontrada em relação à primeira coleta (*) foi de $p < 0,05$.

Total de Tióis(TT): Na Figura 3, foi observada uma diminuição nas proteínas não oxidadas (TT), logo após a segunda sessão de exercício ($17,09 \pm 3,31$ nmol TNB/mg proteína), quando comparado à pré-prova ($26,8 \pm 3,08$ nmol TNB/mg de proteína).

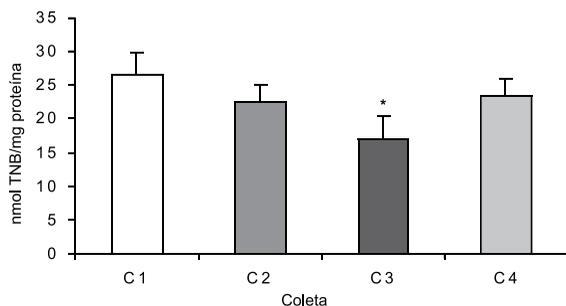


Figura 3. O conteúdo TT foi determinado de acordo com materiais e métodos. Os valores são apresentados em Média±EPM e os resultados foram expressos em (nmol/mg proteína). A diferença significativa foi encontrada em relação à primeira coleta (*) foi de $p < 0,05$.

Catalase (CAT): Na Tabela 2, os resultados mostram um aumento na atividade da CAT logo após a primeira e a segunda sessão de exercício ($2,5 \pm 0,35$ U/mg proteína; $2,5 \pm 0,47$ U/mg proteína) em comparação à pré-prova ($1,5 \pm 0,35$ U/mg proteína).

DISCUSSÃO

Mudanças nos marcadores de Estresse Oxidativo (EO) em nadadores acontecem depois de exercícios de natação^{11,12}. Estudos têm delineado o efeito do exercício crônico no estado redox e nas defesas antioxidantes em nadadores^{10,18,19}. Diferentemente destes trabalhos, nosso estudo demonstrou a res-

posta aguda de duas sessões de natação de longa duração (60 min de nado competitivo + 12 horas de repouso + 60min de nado competitivo), sobre parâmetros de estresse oxidativo.

Nossos resultados mostraram aumento no dano muscular (CK), nos marcadores de dano oxidativo (TBARS e CP) e uma diminuição no conteúdo das proteínas não oxidadas (TT), somente após a segunda sessão de exercício. A atividade da catalase aumentou após a primeira e a segunda sessão. Apontamos ainda que uma sessão de natação não causa estresse oxidativo.

Uma quantia mínima de ERO é necessária para contração muscular^{20,21}. Todavia, quando esta produção de ERO excede a capacidade antioxidante de defesa, ocorre o que chamamos de EO. O EO pode estar associado com a fadiga muscular durante as contrações e após os exercícios intensos^{22,23}. Uma das hipóteses que explica o efeito das ERO na fadiga muscular está relacionada às alterações no funcionamento mitocondrial induzido pelas ERO²⁴. Exercícios intensos levam a uma grande produção de ERO o que pode danificar lipídeos, proteínas e DNA. Adicionalmente, pode induzir alterações no mtDNA e provocar danos nos complexos da cadeia transportadora de elétrons o que, em consequência, diminui a transferência de elétrons e a formação de ATP⁹. Este fenômeno pode aumentar a participação do metabolismo anaeróbico na produção de energia e comprometer a performance²⁴. Nós hipotetizamos que a primeira sessão de natação alteraria os marcadores de dano oxidativo, interferindo na performance dos nadadores na segunda sessão de exercício. Entretanto, isto não foi observado e em ambos os percursos os nadadores percorreram distâncias similares (Tabela 1).

Como marcador de dano muscular, avaliamos a atividade da CK plasmática. A CK no músculo esquelético catalisa a reação reversível da quebra da fosfocreatina. O aumento na atividade da CK no plasma tem sido usado como marcador de lesão da musculatura esquelética após os exercícios^{7,25}. O presente estudo demonstrou o pico da CK logo após a segunda sessão de exercício (Tabela 2). Este resultado difere-se de outros estudos^{25,26} que observaram o pico de CK, 24 horas após uma sessão de exercício. Outros trabalhos ainda^{7,27}, demonstram um pico de CK 48 horas após o exercício. A diferença entre esses resultados pode estar associada aos diferentes protocolos de exercícios utilizados. Nos estudos supracitados, as atividades foram maratona, ultramaratona ou ainda, exercícios que envolviam predominantemente contrações excêntricas. Ou-

tros fatores que podem influenciar as concentrações de CK é o percentual de massa muscular²⁵, que em homens é maior quando comparado ao das mulheres e os níveis de estrogênio, que nas mulheres podem aumentar a habilidade sarcoplasmática, reduzindo o fluxo da CK de dentro para fora da célula muscular²⁸. Especificadamente, na modalidade de natação, acreditamos que a diminuição do atrito muscular que a água proporciona em relação ao peso corporal dos indivíduos, pode fazer com que uma sessão de natação não seja suficiente para causar significativo dano muscular.

Como parâmetros de dano oxidativo, nós avaliamos a lipoperoxidação de lipídeos e a carbonilação de proteínas. As ERO podem oxidar lipídeos de membranas em particular ácidos graxos livres polissaturados, sendo que estes constituem as membranas celulares^{2,3,27}. Nossos resultados estão de acordo com outros trabalhos¹⁰, demonstrando aumento nos níveis do TBARS após o exercício (Figura 1). Especificamente em nosso estudo, tanto a lipoperoxidação quanto a carbonilação de proteínas aumentaram após a segunda sessão de natação (Figura 2).

As ERO produzidas durante os exercícios podem oxidar as estruturas das proteínas e lipídeos²². Então, essa oxidação pode fazer com que os aminoácidos das proteínas sejam desfragmentados⁹. Essas reações conduzem a alterações no funcionamento de várias enzimas¹⁸⁻⁵. A oxidação dos aminoácidos é acompanhada pelo aumento relativo do nível de proteínas carbonis²⁹, o qual é usualmente utilizado como marcador de dano oxidativo. É possível que em indivíduos fisicamente ativos e adaptados a este modelo de exercício (treinados em piscina), a produção das ERO induzida pelo exercício seja menor, e a expressão das enzimas antioxidantes induzida pelo treinamento seja maior (esta hipótese precisa ser confirmada), fazendo com que uma sessão de exercício não altere os marcadores de dano oxidativo. Acreditamos, ainda, que outros sistemas de defesas enzimáticos e não enzimáticos possam estar atuando neste processo.

Outro marcador importante da oxidação da proteínas é o conteúdo de tióis total (TT). Esta técnica verifica a quantidade de sulfidrilas (SH) não oxidadas, que estão presentes nos aminoácidos¹⁵. O grupo SH pode ser oxidado por radicais livres, comprometendo o funcionamento das proteínas. O sistema de defesa antioxidante regula o estado redox celular dos Tióis, protegendo contra a excessiva oxidação. Nosso trabalho demonstrou que o conteúdo total de tióis diminui somente após a segunda sessão de exercício (Figura 3).

Este resultado corresponde ao aumento da CP e TBARS. No esporte de escalada indoor, Magalhães e colaboradores¹ demonstraram diminuição das proteínas sulfidrilas (SH) depois do exercício exaustivo. O exercício intenso provoca condições isquêmicas musculares que ativam a rota da xantina oxidase, formando ácido úrico. Durante esse processo ocorre aumento na concentração de cálcio intramuscular que ativam proteases, que ao ser oxidadas diminuem o conteúdo de sulfidrilas³⁰. A quantidade de proteínas oxidadas no plasma foi diminuída significativamente depois da segunda sessão de exercício. Isto provavelmente contribui para disfunções celulares como perda da atividade catalítica, estrutural e integridade das membranas celulares, interrompendo rotas fisiológicas importantes. Nossos resultados estão de acordo com outros trabalhos^{2,3,10} que demonstram que o exercício físico aumenta o dano oxidativo (CP e TBARS) e diminui o conteúdo de sulfidrilas¹.

A atividade antioxidante enzimática da CAT foi avaliada em eritrócitos. De acordo com os resultados (Tabela 2), observamos um aumento da atividade logo após as duas sessões de exercício. Alguns estudos têm mostrado o aumento na atividade das enzimas antioxidantes, após um período de treinamento físico em humanos^{11,12}, porém, outros estudos apontam para uma diminuição¹⁰. É provável que resultados diferentes encontrados na literatura sejam decorrentes das diferentes técnicas utilizadas, da treinabilidade dos indivíduos ou ainda, quanto ao tipo de amostra escolhida para dosagem. Acreditamos que esta elevação da CAT logo após a primeira sessão, justifique a não alteração nos marcadores de danos oxidativos. Porém, após a segunda sessão, o aumento da atividade da CAT não foi suficiente para proteger o dano oxidativo.

CONCLUSÃO

Uma sessão de exercício exaustivo de natação não é suficiente para provocar alterações significativas nos marcadores de danos oxidativos. Entretanto, duas sessões de natação sem um tempo de recuperação adequado induzem a dano muscular e estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Magalhães J, Ferreira R, Marques F, Oliveira E, Soares J, Ascensão. Indoor climbing elicits plasma oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39(6):955-963.
2. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, Pirola AC, Zago MS, Silveira PC, Dal-Pizzol F, Moreira JC. Imba-

- lance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. *Cell Biol Int* 2006;30(10):848-853.
3. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(9):1576-1581.
 4. Sastre J, Asensi M, Gascó E, Pallardó FV, Ferrero JA, Furukawa et al. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: Prevention by antioxidant administration. *Am J Physiol* 1992;32(5):992-995.
 5. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 1999;31(7):987-997.
 6. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic Biol Med* 2001;31(6):745-753.
 7. Goldfarb AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ. Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2005;37(2):234-239.
 8. Hessel E, Haberland A, Muller M, Lerche D, Schimke I. Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running? *Clin Chim Acta* 2000;1(2):145-156.
 9. Finaud J, Scislawski V, Lac G, Durand D, Vidalin H, Robert A. Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season. *Int J Sports Med* 2006;27(2):87-93.
 10. Gougoura S, Nikolaidis MG, Kostaropoulos IA, Jamurtas AZ, Koukoulis G, Kouretas D. Increased oxidative stress indices in the blood of child swimmers. *Eur J Appl Physiol* 2007;100(2):235-239.
 11. Aguiar-Silva RH, Cintra BB, Milani S, Moraes TP, Tsuji H. Estado antioxidante do Sangue como indicador da eficiência do treinamento em nadadores. *Rev Brás Ciên Mov* 2002;10(3):7-11.
 12. Siems WG, Brenke R, Sommerburg O, Grune T. Improved antioxidative protection in winter swimmers. *Q J Med* 1999;92(4):193-198.
 13. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186(1):421-431.
 14. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol* 1990;186(1):464-478.
 15. Aksenov MY, Markesbery WR. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2001;302(2):141-145.
 16. Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzymol* 1984;105(1):121-126
 17. Lowry OH, Rosebough NG, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193(1):265-275.
 18. Cavas L, Tarhan L. Effects of vitamin-mineral supplementation on cardiac marker and radical scavenging enzymes, and MDA levels in young swimmers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2004;14(2):133-146.
 19. Santo-Silva A, Rebelo MI, Castro EMB, Belo L, Guerra A, Rego C, Quintanilha A. Leukocyte activation, erythrocyte damage, lipid profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescent. *Clin Chim Acta* 2001;306(1):119-126.
 20. Reid MB. Invited review: redox modulation of the skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol* 2001;90(2):724-31.
 21. Andrade FH, Reid MB, Allen DG, Westerblad H. Effect of hydrogen peroxide and dithiothreitol on contractile function of single skeletal muscle fibres from the mouse. *J Physiol* 1998;509(2):565-75.
 22. Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radical and oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 2002;30(2):280-285.
 23. Dawson B, Henry GJ, Goodman C, Gillam I, Beiby JR, Ching S, et al. Effect of vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after 21 Km run. *Int J Sports Med* 2002;23(1):10-15.
 24. Reid MB, Haack KE, Franchek KM, Valberg PA, Kobzik L, West MS. Reactive oxygen in skeletal muscle I: intracellular oxidants kinetics and fatigue in vitro. *J Appl Physiol* 1992;73(5):1797-1804.
 25. Mastaloudis A, Traber MG, Carstensen K, Widrick JJ. Antioxidants did not prevent muscle damage in response to an ultramarathon run. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(1):72-80.
 26. Armstrong R. Muscle damage and endurance events. *Sports Med* 1986;3 (5):370-381.
 27. Bloomer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ, You T, Nguyen L. Effects of antioxidant therapy in women exposed to eccentric exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2004;14 (4):377-388.
 28. Tidus P. Estrogen and gender effects on muscle damage, inflammation, and stress oxidative. *Can J Appl Physiol* 2000;25 (4):274-287.
 29. Packer L. Oxidants, antioxidants nutrients and the athlete. *J Sports Sci* 1997;15(3):353-363.
 30. Hellsten Y. The role of xanthine oxidase in exercise. In: Sen CK, Parker L, Hanninen O. editors. *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise*. Basel: Elsevier Science BV; 2000.p.153-176.

Endereço para correspondência

Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício/UNESC
 Av. Universitária, 1105 – Bairro Universitário
 88806-000 - Criciúma – SC – Brazil
 E-mail: luciano_acordi@yahoo.com.br