

Efeito de diferentes frequências semanais de treinamento sobre parâmetros de estresse oxidativo

Effect of different frequencies weekly training on parameters of oxidative stress

Camila Baumer Tromm¹
Guilherme Laurentina da Rosa¹
Karoliny Boml, Izadora Mariano¹
Bruna Pozzi, Talita Tuon¹
Luciano Acordi da Silva¹
Ricardo Aurino de Pinho¹

Resumo – Durante a contração muscular intensa induzida pelo exercício físico, há aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, ocasionando estresse oxidativo em diversos órgãos, dentre eles o fígado e o coração. O treinamento físico pode aumentar as defesas antioxidantes e diminuir o estresse oxidativo. Contudo, ainda existem dúvidas sobre a frequência de treinamento necessária para melhorar parâmetros de estresse oxidativo. Este trabalho tem como objetivo verificar o efeito das frequências de duas e três vezes de exercício por semana sobre biomarcadores de estresse oxidativo no fígado e coração. Foram utilizados 18 camundongos machos (CF1), jovens (30 a 35g) divididos em grupos (n=6/grupo): não treinado (NT); treinado duas vezes por semana (T2) e treinado três vezes por semana (T3). Os animais foram submetidos ao treinamento durante oito semanas. Quarenta e oito horas após a última sessão os animais foram sacrificados. O fígado e o coração foram removidos e armazenados em freezer – 70°C. Foram analisadas as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, carbonilação de proteínas, conteúdo total de tióis, atividades da superóxido dismutase, catalase e glutatona peroxidase. Os resultados demonstraram que apenas o grupo T3 reduziu dano oxidativo. Ademais, houve aumento no conteúdo total de tióis, atividades da superóxido dismutase e catalase no mesmo grupo em comparação com o não treinado. A atividade da glutatona peroxidase não apresentou diferença significativa entre os grupos. Este estudo demonstrou que somente a frequência de treinamento de três vezes por semana reduz dano oxidativo e aumenta a eficiência do sistema enzimático antioxidante de camundongos.

Palavras-chave: Exercício físico; Estresse oxidativo; Antioxidantes.

Abstract – Intense muscle contraction induced by physical exercise increases the production of reactive oxygen species, which causes oxidative stress in several organs, such as the liver and the heart. Physical training may increase antioxidative defenses and decrease oxidative stress. However, it is not clear what training frequency improves oxidative stress parameters. This study evaluated the effect of training two and three times a week on oxidative stress biomarkers in the liver and the heart. Eighteen young male mice (CF1) weighing 30 to 35 g were divided into three groups (n=6): no training (NT); twice a week training (T2); and three times a week training (T3). The training program lasted eight weeks, and the animals were killed 48 hours after the last training session. The liver and the heart were removed and stored at -70°C. The following analyses were conducted: thiobarbituric acid reactive substances, protein carbonylation, total thiol content, superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase. Oxidative damage was reduced only in the T3 group, and there was an increase in total thiol content, superoxide dismutase and catalase in T3 when compared with the NT group. Glutathione peroxidase was not significantly different between groups. Only training three times a week seemed to reduce oxidative stress and increase the efficiency of the antioxidant system in mice.

Key words: Antioxidant enzymes; Oxidative damage; Physical exercise; Training frequency.

¹ Universidade do Extremo Sul Catarinense. Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde. Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício. Criciúma, SC, Brasil

Recebido em 23/05/11
Revisado em 16/08/11
Aprovado em 18/08/11



Licença
Creative Commons

INTRODUÇÃO

Durante a contração muscular induzida por exercícios, o consumo de oxigênio pode aumentar de 10 a 20 vezes em níveis sistêmicos e de 100 a 200 vezes em níveis musculares em relação aos valores de repouso¹, ocasionando concomitantemente elevada produção de espécies reativas de oxigênio (EROs)^{2,3}.

O desequilíbrio entre produção e remoção das ERO leva ao processo de estresse oxidativo (EO) que está associado a danos musculares e disfunções metabólicas e, por conseguinte, redução do desempenho físico^{2,4}. Adicionalmente, o EO altera o funcionamento fisiológico de diversos órgãos, dentre eles o fígado e o coração. A alta taxa metabólica apresentada por esses órgãos está associada ao alto fluxo de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial e consequente elevada produção de EROs⁵.

O fígado é o principal órgão relacionado ao controle metabólico e diversos autores sugerem que o mesmo é acometido, de forma importante, ao EO durante e após o exercício físico^{6,7}. Do mesmo modo, o coração, órgão central do sistema circulatório, também apresenta um elevado consumo de oxigênio durante a realização de exercícios, o que favorece a produção de EROs. As EROs são produzidas principalmente em decorrência de vazamento de elétrons ao nível da Coenzima Q entre os complexos I e III da cadeia de transporte de elétrons (CTE). Ainda, a xantina oxidase presente no citosol e a NADPH oxidase presente na membrana celular são outras fontes importantes de produção de EROs durante a realização de exercício físico¹. O estresse oxidativo provoca diversas alterações em células hepáticas e cardíacas, podendo ocasionar doenças como esteatose hepática, hepatite C e aterosclerose. No entanto, o treinamento físico quando bem planejado, pode melhorar tanto os mecanismos de defesa antioxidantes^{5,6,8}, como a capacidade oxidativa do tecido⁹, podendo diminuir a magnitude do ataque oxidativo^{10,11} e prevenir efeitos deletérios decorrentes do mesmo^{12,13}.

Estudos prévios em modelo animal já demonstraram que o treinamento físico altera positivamente o estado *redox* de inúmeras células e tecidos e pode melhorar parâmetros de estresse oxidativo^{5,10,14,15}. Conhecimento este que pode ser transponível aos humanos, dado o vínculo existente entre as diferentes espécies animais, extrapolando, assim, os dados obtidos em pesquisa animal para a espécie humana. Silva et al.⁵ e Frederico et al.¹² demonstraram que oito semanas de treinamento com cinco sessões semanais foram suficientes para reduzir o estresse oxidativo no fígado⁵ e no coração¹². Contudo, não se sabe se as frequências de duas e três sessões semanais efetuadas durante oito semanas de treinamento serão suficientes também para induzir melhorias nos parâmetros de EO nos tecidos hepático e cardíaco. Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos das frequências de duas e três vezes semanais de exercício por um período de oito semanas sobre parâmetros de estresse oxidativo em fígado e coração de camundongos.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O protocolo do estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Santa Catarina, Brasil, de acordo com “Guiding Principles in the Care and Uses Animals”¹⁶. Foi utilizado um total de 18 camundongos machos (CF1), com idade, aproximadamente, de 90 dias, com massa corporal entre 30 e 35g, provenientes do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas de polipropileno, e foram alimentados “*ad libitum*” com água e uma dieta equilibrada (Purina®). Durante o período de experimento, todos os animais foram mantidos em uma sala com temperatura controlada de, aproximadamente, 23°C e com um fotoperíodo definido de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão.

Protocolo experimental

Os camundongos foram divididos randomicamente em três grupos (n=6): não treinado (NT); treinado duas vezes por semana (T2) e treinado três vezes por semana (T3). Todos os animais foram adaptados em esteira ergométrica por uma semana (10m/min, sem inclinação, durante 10 min/dia) todos os dias da semana. Após o período de adaptação, os grupos T2 e T3 foram submetidos a oito semanas de treinamento (corrida em esteira), com velocidade constante de 13m/min, sem inclinação, totalizando 45 minutos por sessão⁹. Esta velocidade de treinamento corresponde a uma intensidade moderada de aproximadamente 78% do $VO_{2\text{máx}}$ ¹⁷. Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento, os animais foram anestesiados através da administração intraperitoneal de Ketamina (80mg/kg) e Xilazina (12mg/kg) e posteriormente, sacrificados. O fígado e o coração foram cirurgicamente removidos e imediatamente armazenados em freezer – 70°C para posterior análise.

Marcadores de dano oxidativo

Os danos oxidativos em lipídeos foram determinados a partir da formação de substâncias reativas ao aquecimento do ácido tiobarbitúrico (TBARS) o qual foi mensurado espectrofotometricamente (532nm), e expresso em nmol/mg de proteína, conforme descrito por Draper & Hadley⁸.

Os danos oxidativos em proteínas foram mensurados pela determinação de grupos carbonilas baseados na reação com dinitrofenilhidrazina. O conteúdo de carbonila foi determinado espectrofotometricamente (370nm), usando um coeficiente 22.000 Molar⁻¹, e expresso em nmol/mg de proteína, como previamente descrito por Levine et al.¹⁹.

O conteúdo total de tióis (TT) foi determinado numa reação dos grupos tióis com 5,5 ditióbis (ácido nitro-benzóico) (DTNB), gerando um derivado de coloração amarela. A leitura do conteúdo de TT foi feita espectrofotometricamente (412nm) e expressa em DTNB/mg de proteína²⁰.

Atividade enzimática antioxidante

A atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) foi determinada pela inibição da auto-oxidação da adrenalina medida espectrofotometricamente.

mente (480nm), expressa em U de SOD/mg de proteína, como previamente descrito por Bannister & Calabrese²¹.

A atividade enzimática da catalase (CAT) foi determinada pela diminuição no consumo de peróxido de hidrogênio, medido espectrofotometricamente (240nm) e expressa em U de CAT/mg de proteína, conforme previamente descrito por Aebi²².

A determinação da atividade da Glutathione Peroxidase (GPX) foi realizada a partir da taxa de decaimento da NADPH, determinada por espectrofotometria (340nm), e expressa em mM/min/mg de proteína, conforme Flohé e Gungler²³. A quantidade de proteínas em todos os ensaios foi mensurada usando a técnica de Lowry et al.²⁴.

Análise Estatística

Os dados foram expressos como média e erro padrão da média e analisados estatisticamente por meio da análise de variância (ANOVA) one-way, seguido pelo teste post hoc de Tukey. O nível de significância pré-estabelecido foi de 5% ($p < 0,05$). O *software* utilizado para análise dos dados foi o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®), versão 17.0 para *Windows*.

RESULTADOS

Conforme figura 1A, os resultados demonstram menor nível de TBARs no fígado ($0,13 \pm 0,02$ nmol/mg de proteína) e no coração ($0,20 \pm 0,01$ nmol/mg de proteína) no grupo T3 em relação ao não treinado ($0,25 \pm 0,02$; $0,36 \pm 0,06$ nmol/mg/proteína), respectivamente. Da mesma forma, os resultados de carbonilação de proteínas (figura 1B) demonstram uma diminuição no conteúdo de carbonilas no fígado ($0,19 \pm 0,049$ nmol/mg de proteína) e no coração ($0,15 \pm 0,011$ nmol/mg de proteína) no grupo T3 em relação ao não treinado ($0,35 \pm 0,041$; $0,26 \pm 0,017$ nmol/mg de proteína), respectivamente. Entretanto o treinamento realizado duas vezes por semana (T2) não foi suficientemente capaz de alterar os níveis de TBARS e conteúdo de carbonilas no fígado ($0,23 \pm 0,02$; $0,32 \pm 0,09$) e no coração ($0,32 \pm 0,03$; $0,24 \pm 0,04$ nmol/mg de proteína) em relação aos animais não treinados. Os resultados de tióis totais observados na figura 1C demonstram maior conteúdo no fígado ($71,08 \pm 4,79$ DTNB/mg de proteína) e no coração ($97,7 \pm 14,2$ DTNB/mg de proteína) dos animais pertencentes ao grupo T3 em relação ao grupo não treinado ($41,7 \pm 4,07$; $41,6 \pm 8,3$ DTNB/mg de proteína) respectivamente. Entretanto, o grupo submetido ao treinamento com duas sessões semanais não foi suficientemente capaz de alterar este marcador ($47,7 \pm 4,2$; $51,9 \pm 5,8$ DTNB/mg de proteína) em relação ao grupo não treinado.

Os valores foram apresentados em Média \pm EPM, avaliados por ANOVA seguido pelo teste de Tukey. A lipoperoxidação e a carbonilação de proteínas foram expressas em nmol/mg de proteína e o conteúdo total de tióis expresso em DTNB/mg de proteína. $p < 0,05$, * vs NT.

Em relação às atividades das enzimas antioxidantes, os resultados mostrados pela figura 2A denotaram aumento no fígado ($0,37 \pm 0,05$ U/mg

de proteína) e no coração ($0,23 \pm 0,02$ U/mg de proteína) da atividade da SOD no grupo T3 em comparação ao grupo S ($0,15 \pm 0,01$; $0,12 \pm 0,01$ U/mg de proteína). Entretanto, o treinamento físico realizado apenas duas vezes por semana (T2) não foi suficientemente capaz de alterar este marcador ($0,24 \pm 0,03$; $0,07 \pm 0,006$ U/mg de proteína). Similarmente, a atividade da CAT (figura 2B) mostrou-se aumentada no fígado ($0,17 \pm 0,03$ U/mg de proteína) e no coração ($0,45 \pm 0,04$ U/mg de proteína) no grupo T3 em relação ao grupo não treinado ($0,07 \pm 0,02$; $0,02 \pm 0,001$ U de CAT/mg de proteína). Novamente, o treinamento realizado duas vezes por semana (T2) não foi suficientemente capaz de aumentar a atividade da CAT no fígado ($0,05 \pm 0,01$) e no coração ($0,02 \pm 0,001$ U/mg de proteína) em relação ao grupo não treinado. A atividade da GPX (figura 2C) no grupo T2 e T3 no fígado ($0,8 \pm 0,06$; $1,0 \pm 0,1$ mM/mg de proteína) e no coração ($0,7 \pm 0,1$; $0,9 \pm 0,1$ mM/mg de proteína) não foi significativamente diferente em relação ao grupo não treinado ($0,7 \pm 0,1$; $0,6 \pm 0,04$ mM/mg de proteína).

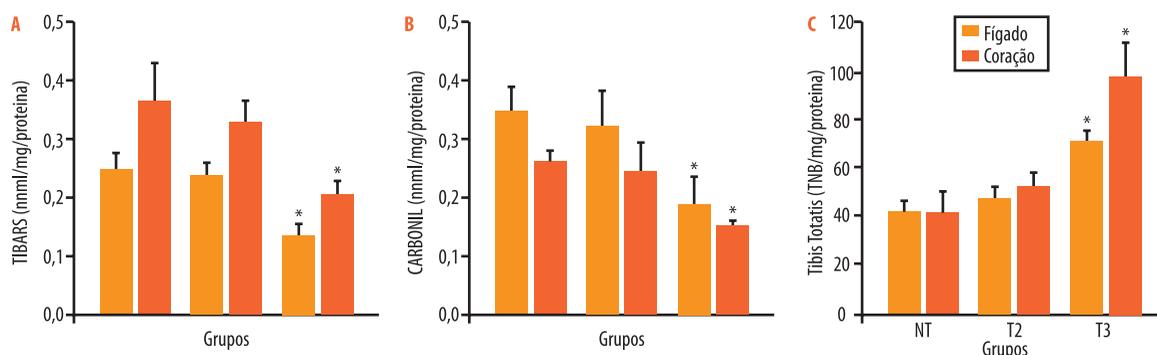


Figura 1. Lipoperoxidação (A), carbonilação de proteínas (B) e conteúdo total de tióis (C) no fígado e coração de camundongos após 48 horas da última sessão de treinamento.

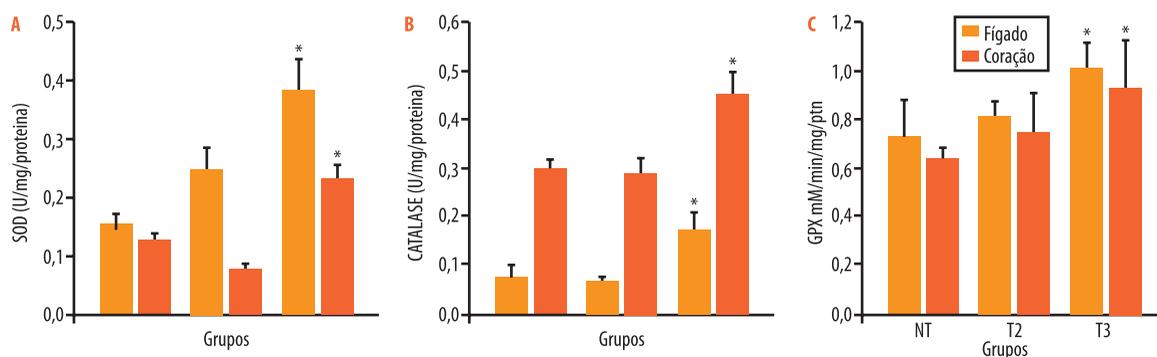


Figura 2 - Atividades enzimáticas da superóxido dismutase (A), catalase (B) e glutatona peroxidase (C) no fígado e coração de camundongos após 48 horas da última sessão de treinamento. Os valores foram apresentados em Média \pm EPM, avaliados por ANOVA seguido pelo teste de Tukey. As atividades da superóxido dismutase e da catalase foram expressas em U/mg de proteína e da glutatona peroxidase expressa em mM/min/mg de proteína. $p < 0,05$, * vs NT.

DISCUSSÃO

Estudos demonstraram que o exercício físico exaustivo aumenta a produção das EROs e, conseqüentemente provoca EO em diversos órgãos e tecidos^{6,7}. Entretanto, estudos demonstraram que o exercício crônico moderado pro-

duz adaptações metabólicas que podem ajudar a reduzir o EO em diversos órgãos, principalmente, em populações especiais^{13,14}.

Sobre as adaptações fisiológicas decorrentes da prática de treinamento físico realizada com duas sessões semanais de exercício, Dalleck et al.²⁵ reportaram melhoras nos parâmetros fisiológicos de treinamento (lactato e VO_2 max.). Entretanto, ainda não se tem claro as respostas bioquímicas sobre os marcadores de estresse oxidativo. O resultado do presente estudo demonstrou que duas sessões de exercício por semana não são suficientes para promover melhorias nos parâmetros de EO. É possível que um longo período de intervalo (>72 horas) entre as sessões ultrapasse a fase de supercompensação inibindo o efeito adaptativo bioquímico do treinamento.

Sabe-se que a relação entre EO e exercício físico está diretamente relacionada à intensidade e duração do treinamento^{2,26}. Assim, o protocolo de treinamento deve ter intensidade e volume suficiente, a fim de criar uma resposta adaptativa ao organismo a cada sessão. Portanto, de acordo com nossos resultados, sugere-se que são necessárias no mínimo, três sessões semanais, durante oito semanas de exercício para reduzir danos oxidativos e aumentar a atividade das enzimas antioxidantes no fígado e no coração dos animais.

As EROs atacam lipídeos e proteínas celulares abstraindo seus elétrons, a fim de encontrar um estado químico estável. Os resultados do presente estudo demonstram, ainda, que animais submetidos, no mínimo, a três sessões semanais de treinamento, apresentam menores níveis de danos em lipídeos (TBARS) e proteínas (CP). Estes achados corroboram os resultados de diversos estudos que encontraram redução nos parâmetros de estresse oxidativo com programa de treinamento similar (frequência semanal de três vezes)^{14,27}.

A diminuição dos danos oxidativos induzidos pelo treinamento físico pode ser explicada por, pelo menos, três principais mecanismos. Primeiro, pelo aumento tanto da expressão¹² como da atividade⁹ de enzimas antioxidantes. Segundo, pela redução na produção de oxidantes¹³ e também, por menor extravasamento de elétrons mitocondrial⁹. E terceiro, outro mecanismo que poderia explicar esse fenômeno é a exposição crônica do tecido às ERO, induzida pelo treinamento, tornando o órgão mais resistente aos efeitos derivados do mecanismo de estresse oxidativo¹⁰.

As EROs podem modificar aminoácidos por reações em cadeia por meio de agregados de proteínas suscetíveis a degradações proteolíticas. Durante esse processo, alguns aminoácidos são convertidos em derivados de carbonil¹. Está bem estabelecido na literatura que as proteínas oxidadas são menos degradadas por proteassomas. Essas proteases intracelulares são responsáveis por 70 a 80% da degradação após exposição oxidante, exercendo um papel essencial no sistema antioxidante²⁸. Um dos possíveis mecanismos para redução nos níveis de carbonilação de proteínas (CP), segundo Radák et al.¹¹ é que o treinamento físico aumenta a atividade de proteassomas como um processo adaptativo à oxidação de proteínas, acelerando o reparo das mesmas (*turnover* protéico).

Outro marcador importante da oxidação protéica é o conteúdo total de tióis (TT). O presente trabalho demonstrou aumento no conteúdo total de tióis somente no grupo T3. Esta técnica verifica a quantidade de sulfidrilas (SH) não oxidadas, que estão presentes nos aminoácidos²⁰. O grupo SH pode ser oxidado por radicais livres, comprometendo o funcionamento das proteínas. Uma possível explicação para esses resultados é o aumento das proteínas de estresse (HSP) induzidas pelo exercício²⁶. Essas proteínas têm a função de controlar a homeostase celular, protegendo contra a excessiva oxidação. Contudo, a dosagem das HSP foi uma limitação do presente estudo.

Em relação às atividades das enzimas antioxidantes, os resultados apontaram aumento da SOD e CAT somente no grupo treinado com três sessões semanais. A SOD dismuta o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o qual é subsequentemente catalisado pela CAT e convertido em água e oxigênio molecular. Alguns estudos têm apontado que o treinamento físico não exerce efeito sobre as enzimas antioxidantes no fígado⁷ e no coração²⁹. Por outro lado, os resultados do presente estudo estão de acordo com outros estudos, demonstrando que o treinamento físico aumenta atividade da SOD no fígado^{5,6} e no coração¹⁵.

Após o treinamento físico, a atividade da SOD aumenta, provavelmente, como resposta ao estresse oxidativo induzido pelo exercício. Este achado pode ser explicado pelo fato do treinamento físico regular ativar fatores de transcrição como o NF- κ B, sendo este responsável por acionar uma variedade de genes, incluindo SOD mitocondrial³⁰.

O efeito do treinamento sobre a atividade e expressão da CAT é ainda inconsistente e controverso¹⁰. Contudo, o aumento da atividade dessa enzima foi observado no fígado⁵ e no coração de ratos treinados⁸. O treinamento físico ativa fatores de transcrição como a AMPK, que ativam CATmRNA, estimulando sua síntese protéica e possivelmente, aumentando a sua atividade^{1,8}. Ademais, a alta atividade da CAT pode ser atribuída à formação de H_2O_2 pela SOD. Segundo Halliwell e Gutteridge¹, a interação química do H_2O_2 no sítio ativo da catalase faz com que um dos átomos de hidrogênio seja transferido do primeiro oxigênio para o segundo, ocasionando uma quebra heterolítica entre os átomos e formando água (molécula não deletéria). Isto, por sua vez, explica a diminuição do dano oxidativo nos tecidos.

Em contrapartida, a atividade da glutathione peroxidase (GPX), não apresentou diferença significativa entre os grupos experimentais do presente estudo. A GPX e a CAT possuem funções similares no que se refere à decomposição do H_2O_2 . No entanto, sob esse aspecto, a GPX é mais eficiente na presença de altas concentrações de EROs, enquanto que a CAT desempenha importante função em presença de baixas concentrações de H_2O_2 ³. Uma hipótese para os resultados supracitados é que o treinamento físico realizado três vezes por semana proporcionou um efeito adaptativo no balanço *redox* de antioxidantes, fazendo com que as baixas concentrações de H_2O_2 sofressem ação somente da CAT.

CONCLUSÃO

Tomados em conjunto, os resultados do presente estudo demonstraram que o treinamento em esteira com frequência semanal de três vezes, reduz o dano oxidativo e aumenta a eficiência do sistema enzimático antioxidante no fígado e coração de camundongos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Halliwell B, Gutteridge MC. Free radicals in biology and medicine. Oxford: University Press; 2007
2. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* 2006;36:327-58.
3. Jenkins RR, Goldfarb A. Introduction: oxidant stress, aging, and exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25:210-2.
4. Aucello M, Dobrowolny G, Musarò A. Localized accumulation of oxidative stress causes muscle atrophy through activation of an autophagic pathway. *Autophagy* 2009;5:527-9.
5. Silva LA, Rosani MM, Souza PS, Severino JB, Fraga D, Streck EL, et al. Comparação do treinamento físico de quatro e oito semanas sobre a atividade da cadeia transportadora de elétrons e marcadores de estresse oxidativo em fígado de camundongos. *Rev Bras Med Esporte* 2010;16:126-9.
6. Navarro-Arevalo A, Sanchez-del-Pino MJ. Age and exercise-related changes in lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in liver and soleus muscle tissues of rats. *Mech Ageing Dev* 1998;104:91-102.
7. Ogonovszky H, Sasvári M, Dosek A, Berkes I, Kaneko T, Tahara S, et al. The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. *Can J Appl Physiol* 2005;30:186-95.
8. Husain K, Somani SM. Interaction of exercise and adenosine receptor agonist and antagonist on rat heart antioxidant defense system. *Mol Cell Biochem* 2005;270:209-14.
9. Silva LA, Pinho CA, Scarabelot KS, Fraga DB, Volpato AM, Boeck CR. Physical exercise increases mitochondrial function and reduces oxidative damage in skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2009;105:861-7.
10. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, Pirola AC, Zago MS, Silveira PC, et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. *Cell Biol Int* 2006;30:848-53.
11. Radák Z, Tahara TK, Nakamoto H, Ohno H, Sasvári M, Nyakas C, et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med* 1999;27:69-74.
12. Frederico M, Luz G, Justo SL, Silva S, Medeiros C, Barbosa VA, et al. Exercise training provides cardioprotection via a reduction in reactive oxygen species in rats submitted to myocardial infarction induced by isoproterenol. *Free Radic Res* 2009;11:1-8.
13. Coelho BLP, Rocha LGC, Scarabelot KS, Scheffer D, Rosani MM, Silveira PCL, et al. Physical exercise prevents the exacerbation of oxidative stress parameters in chronic kidney disease. *J Ren Nutr* 2010;47:16-19.
14. Nojima H, Watanabe H, Yamane K, Kitahara Y, Sekikawa K, Yamamoto H, et al. Effect of aerobic exercise training on oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2008;57:170-6.
15. Hamilton KL, Powers SK, Sugiura T, Kim S, Lennon S, Tumer N, et al. Short-term exercise training can improve myocardial tolerance to I/R without elevation in heat shock proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:1346-52.
16. Olert E, Cross B, Mcwilliams A. Guide to care and use of experimental animals. 2nd ed. Canadian Council on Animal, Ottawa; 1993.

17. Fernando P, Bonen A, Hoffman-Goetz L. Predicting submaximal oxygen consumption during treadmill running in mice. *Can J Physiol Pharmacol* 1993;71:854-7.
18. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth Enzymol* 1990;186:421-31.
19. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol* 1990;186:464-78.
20. 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;302:141-5.
21. Bannister JV, Calabrese L. Assay for SOD. *Meth Biochem* 1987;32:279-312.
22. Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzymol* 1984;105:121-126.
23. Flohé L, Gunzler W. Assays of glutathione peroxidase. *Meth Enzymol* 1984;105:114-21.
24. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-7.
25. Dalleck L, Bushman TT, Crain RD, Gajda MM, Koger EM, Derksen LA. Dose-response relationship between interval training frequency and magnitude of improvement in lactate threshold. *Int J Sports Med* 2010;31:567-71.
26. Smolka, MB, Zoppi CC, Alves AA, Silveira LR, Marangoni S, Pereira-Da-Silva L, et al. HSP72 as a complementary protection against exercise induced oxidative stress in the soleus muscle of rats. *Am J Physiology* 2000;279:1539-45.
27. Karolkiewicz J, Michalak E, Pospieszna B, Deskur-Smielecka E, Nowak A,
28. Pilaczyńska-Szcześniak Ł. Response of oxidative stress markers and antioxidant parameters to an 8-week aerobic physical activity program in healthy, postmenopausal women. *Arch Gerontol Geriatr* 2009;49:67-71.
29. Davies KJ, Shringarpure R. Preferential degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome may be inhibited in aging and in inflammatory neuromuscular diseases. *Neurology* 2006;66:93-6.
30. Tiidus PM, Houston ME. Antioxidant and oxidative enzyme adaptations to vitamin E deprivation and training. *Med Sci Sports Exerc* 1994;26:354-9.
31. Duncan K, Harris S, Ardies CM. Running exercise may reduce risk for lung and liver cancer by inducing activity of antioxidant and phase II enzymes. *Cancer Lett* 1997;116:151-8.

Endereço para correspondência

Camila Baumer Tromm
Av. Universitária, 1105 – Bairro
Universitário
88806-000 – Criciúma, SC. Brasil
E-mail: milatromm@hotmail.com