

EXERCÍCIO AERÓBIO EXAUSTIVO AUMENTA O ESTRESSE OXIDATIVO EM CORREDORES FUNDISTAS TREINADOSÁlisson de Carvalho Gonçalves¹, Lucas Ribeiro Rodrigues²Mateus Petrachini Terra², Jeffer Eidi Sasaki³Guilherme Vannucchi Portari⁴**RESUMO**

O metabolismo energético é o principal produtor de espécies reativas de oxigênio (ERO). Desta maneira, exercício intenso aumenta a produção de ERO, podendo causar estresse oxidativo. O objetivo deste estudo foi avaliar o estresse oxidativo provocado por uma sessão de exercício exaustivo em corredores fundistas treinados. Onze corredores foram submetidos a protocolo de exercício incremental exaustivo em esteira. Foi coletado 4mL de sangue antes, imediatamente e 24 horas após o protocolo de esforço. A concentração plasmática de malondialdeído (MDA) foi utilizada como marcador de dano oxidativo, determinada por cromatografia líquida de alta eficiência. Para avaliar as alterações nos sistemas antioxidantes, a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), e a concentração de tióis não-proteicos foram avaliadas por espectrofotometria. A concentração de MDA foi maior 24 horas após o exercício em relação ao período imediatamente após. A atividade da CAT foi maior 24 horas após o esforço, em relação ao demais tempos de coleta. A atividade da SOD foi menor imediatamente após o esforço exaustivo em relação aos valores basais. A concentração de tióis não-proteicos foi menor nos períodos imediatamente e 24 horas após o esforço exaustivo. Conclui-se que o exercício exaustivo eleva o estresse oxidativo de corredores treinados, contudo as alterações nos marcadores não podem ser completamente verificadas imediatamente após o esforço, sendo mais pronunciadas 24 horas após o exercício exaustivo.

Palavras-chave: Estresse oxidativo. Exercício aeróbico. Atletas. Corrida.

1-Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG, Brasil.

2-Programa de pós-graduação em Educação Física, Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG, Brasil.

ABSTRACT

Exhaustive aerobic exercise increases oxidative stress in trained runner runners

Energy metabolism is the major producer of reactive oxygen species (ROS). Thus, intense exercise increases the production of ROS, which can cause oxidative stress. this study aimed evaluate the oxidative stress caused by an exhaustive exercise session in trained runners. Eleven runners were submitted to exhaustive treadmill exercise protocol. Blood was collected before, immediately after and 24 hours after the exercise bout. Malondialdehyde (MDA) concentration in plasma was used as oxidative damage marker. MDA concentration was evaluated by high performance liquid chromatography. To evaluate the changes in antioxidant systems, the activity of the superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzymes, and the concentration of non-protein thiols were evaluated by spectrophotometry. The concentration of MDA was higher 24 hours after the exercise in relation to the post-exercise period. CAT activity was greater 24 hours after the exercise, in relation to the other periods. SOD activity immediately after exhaustion was lower than baseline value. The concentration of non-protein thiols was lower in the periods immediately after and 24 hours after the exhaustive effort. It is concluded that exhaustive exercise raises the oxidative stress of trained runners, however changes in markers can not be completely verified immediately after exercise, being more pronounced 24 hours after the exhaustive exercise.

Key words: Oxidative stress. Aerobic exercise. Athletes. Running.

3-Departamento de Ciências do Esporte, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG, Brasil.

INTRODUÇÃO

A quantidade de energia necessária para manter ou elevar o esforço durante o exercício físico é regulada pela intensidade, duração e o tipo de exercício, além da aptidão física individual. O aumento da carga de trabalho (intensidade x duração) aumenta proporcionalmente a demanda energética (McArdle, Katch, e Katch, 2010).

Sendo assim, exercícios exaustivos gastam proporcionalmente mais energia que atividades de intensidades moderadas. Além disso, o gasto energético após o esforço é aumentado quando comparado a exercício de intensidades baixas ou moderada (Romijn e colaboradores, 2000).

Em exercícios de endurance, a produção bioenergética se dá principalmente pela oxidação dos macronutrientes até a redução completa do oxigênio nas mitocôndrias (Hawley e Leckey, 2015).

Contudo, o processo de transporte de elétrons na cadeia fosforilativa, além das moléculas de adenosina trifosfato e água, produz espécies reativas de oxigênio (ERO) (Di Meo e Venditti, 2001; Yavari e colaboradores, 2015).

ERO são moléculas de alta reatividade, e podem interagir com outras moléculas prejudicando a função dessas. Para combater o potencial pró-oxidante das ERO, organismos aeróbios desenvolveram mecanismos antioxidantes capazes de restabelecer a homeostase redox.

Os sistemas antioxidantes são compostos por enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathione peroxidase (GPx) e por moléculas e nutrientes como a glutamina reduzida e vitaminas C e E (Carocho e Ferreira, 2013).

As ERO possuem papel fundamental na sinalização celular, controle de canais iônicos e expressão gênica, fazendo-se fundamental nos processos adaptativos ao treinamento.

Todavia, um desequilíbrio entre a capacidade pró-oxidante e antioxidante a favor da oxidação desestabiliza a sinalização e controle das reações redox, caracterizando assim o estresse oxidativo (Sies, 2015).

Além do prejuízo à sinalização redox, o estresse oxidativo pode danificar macromoléculas, principalmente os lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, alterando suas funções fisiológicas e bioquímicas fundamentais para o adequado funcionamento

do metabolismo (Carocho e Ferreira, 2013; Sies, 2015).

As mitocôndrias são as principais produtoras endógenas de espécies reativas. No metabolismo bioenergético, a cadeia transportadora de elétrons produz o ânion superóxido, o qual pode ser convertido a outras ERO (Di Meo e Venditti, 2001).

Embora as mitocôndrias sejam as principais fontes endógenas de espécies reativas, os processos inflamatórios também produzem ERO (Aslani e Ghobadi, 2016).

Assim, tendo em vista que o exercício físico intenso aumenta a produção energética mitocondrial e pode induzir processos inflamatórios agudos, espera-se que o esforço exaustivo aumente o estresse oxidativo, e consequentemente, o dano oxidativo às macromoléculas.

Estudos em humanos e animais mostraram alterações em marcadores do estresse oxidativo após o esforço intenso (Mastaloudis, Leonard, e Traber, 2001; Nieman e colaboradores, 2003).

Estudos que avaliaram exercícios de aeróbicos de longa duração, revelaram aumento significativo nos marcadores de peroxidação lipídica (Aguiló e colaboradores, 2005; Neubauer e colaboradores, 2008).

Contudo, poucos estudos avaliaram o efeito do esforço exaustivo sobre o dano oxidativo e funções antioxidantes. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a resposta dos marcadores de estresse oxidativo imediatamente e 24 horas após o exercício aeróbio exaustivo de carga progressiva em corredores fundistas treinados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Participantes

Foram recrutados corredores amadores engajados em programa de treinamento a mais de 12 meses, que eventualmente participassem competições de corrida de longas distâncias (5 km ou mais), Corredores que apresentassem hábitos etílicos e tabácicos, doenças incapacitantes ou limitações musculoesqueléticas que prejudicasse a realização do protocolo de esforço não foram incluídos. Desta maneira, foram selecionados 11 corredores fundistas amadores do sexo masculino, com idade de $34,2 \pm 7,6$ anos, massa corporal de $73,1 \pm 12,8$ kg, $173,8 \pm 8,5$ cm de altura e percentual de gordura de $10,4 \pm 6,7\%$.

O experimento iniciou-se após o parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Triângulo Mineiro sob o protocolo 993.636. Os participantes foram esclarecidos sobre todos os procedimentos e assinaram Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

Protocolo de esforço exaustivo

Os participantes realizaram a familiarização ao protocolo de exercício progressivo em esteira (Inbramed Super ATL), com inclinação fixa de 1%. A velocidade inicial foi de 6 km.h⁻¹ durante 3 minutos, com acréscimo de 1 km.h⁻¹ a cada 2 minutos, até a exaustão. O protocolo de exercício exaustivo de intensidade progressiva foi realizado uma semana após o procedimento de familiarização. Antes da realização do protocolo de exercício, os participantes permaneceram sentados por 10 minutos.

A velocidade inicial do exercício foi determinada pela subtração de 6 km.h⁻¹ da velocidade máxima atingida no protocolo de familiarização, a fim de garantir a execução de aproximadamente seis estágios durante o protocolo de esforço progressivo.

Assim, o protocolo de exercício consistiu na realização de 3 minutos de aquecimento a 6 km.h⁻¹, progredindo para a inicial, com acréscimo de 1 km.h⁻¹ a cada 2 minutos, até a exaustão. O protocolo de exercício poderia ser finalizado a qualquer momento, conforme a vontade do participante.

Coleta e preparo de sangue

Foram coletados aproximadamente 4 mL de sangue em tubos de vácuo com EDTA. As coletas foram realizadas imediatamente antes, imediatamente após e 24 horas após o protocolo de exercício. Após cada coleta, o sangue foi centrifugado e o plasma foi imediatamente coletado e estocado a -20°C até a execução das análises. O hematócrito foi lavado com solução fisiológica três vezes e estocado a -20°C até a execução das análises.

Marcador de dano oxidativo

A concentração de malondialdeído (MDA) foi utilizada com marcador de

peroxidação lipídica, sendo avaliada nos momentos pré, imediatamente e 24 horas após a exaustão. A determinação da concentração de MDA plasmático foi feita segundo o método adaptado Tatum, Changchit e Chow (1990). Alíquota do plasma foi adicionada a solução de ácido tiobarbitúrico (TBA).

Após incubação em água fervente, o aduto TBA-MDA foi extraído com isobutanol e identificado através de detector fluorimétrico após separação por cromatografia líquida de alta performance. A concentração de MDA foi calculada utilizando como referência curva de calibração obtida a partir do tratamento idêntico de tetraethoxipropano.

Marcadores de atividade antioxidante

A função antioxidante foi avaliada os momentos pré, imediatamente após e 24 horas após o fim do protocolo de indução à exaustão. Os antioxidantes avaliados foram a concentração plasmática de tióis não-proteicos e as atividades das enzimas SOD e CAT nos eritrócitos.

A quantificação de tióis não-proteicos plasmáticos foi realizada por método colorimétrico, o qual consiste na reação do grupo sulfidril com 5,5'-ditiobis (2-ácido nitrobenzóico) (DTNB). As proteínas plasmáticas foram precipitadas com TCA 50%. Alíquota do sobrenadante foi submetida a reação com DTND e lida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 412 nm. A concentração foi calculada utilizando-se coeficiente de extinção molar de 13100 M⁻¹.cm⁻¹ (Sedlak e Lindsay, 1968).

A atividade da CAT foi determinada de acordo com o método de Aebi (1984), o qual baseia-se no acompanhamento da decomposição de H₂O₂, determinada espectrofotometricamente a 240 nm. Os valores de atividade enzimática da CAT foram expressos em K/gHb.

Para a avaliação da atividade da enzima SOD nos eritrócitos, foi realizada a extração da hemoglobina com solução de etanol e clorofórmio conforme proposto por Tsuchihashi (1923).

A atividade da SOD no eritrócito foi avaliada utilizando o método de inibição da auto-oxidação de pirogalol monitorada por espectrofotometria a 420 nm (Marklund e Marklund, 1974).

Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade necessária para inibir a

autoxidação de pirogallol em 50% por minuto, sendo os resultados expressos em U/mgHb.

Análise estatística

Os dados foram analisados pela estatística descritiva utilizando o software *Graphpad Prism 5.0* e estão apresentados em média $\pm$ desvio padrão. A distribuição dos dados na curva gaussiana foi verificada pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

Após constatação da normalidade, foi aplicado análise da variância (ANOVA) de um fator para medidas repetidas seguido do teste *post hoc* de Tukey. Foi adotado nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

A atividade da enzima SOD foi menor imediatamente após o esforço ($869,9 \pm 97,9$ U.gHb⁻¹) em relação aos valores basais ($969,9 \pm 114,3$ U.gHb⁻¹) ($p=0,0498$), contudo, não foi diferente em relação à atividade da enzima 24 horas após a exaustão ($893,5 \pm 68,8$ U.gHb⁻¹) (Figura 1A).

A atividade da CAT foi maior 24 horas após o esforço ($219,3 \pm 46,8$ K.gHb⁻¹) em relação aos valores basais ($172,6 \pm 43,3$ K.gHb⁻¹) ($p=0,0132$), contudo não se diferiu dos valores obtidos no período imediatamente após o esforço ($204,3 \pm 31,16$ K.gHb⁻¹) (Figura 1B).

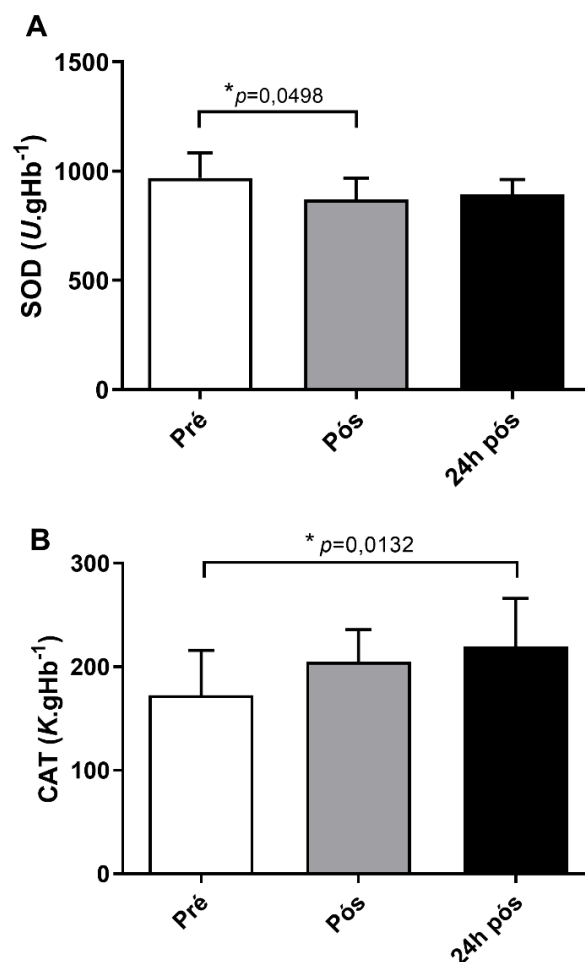


Figura 1 - Atividade das enzimas antioxidantes. A: atividade da superóxido dismutase (SOD); B: atividade da catalase (CAT). * = $p < 0,05$.

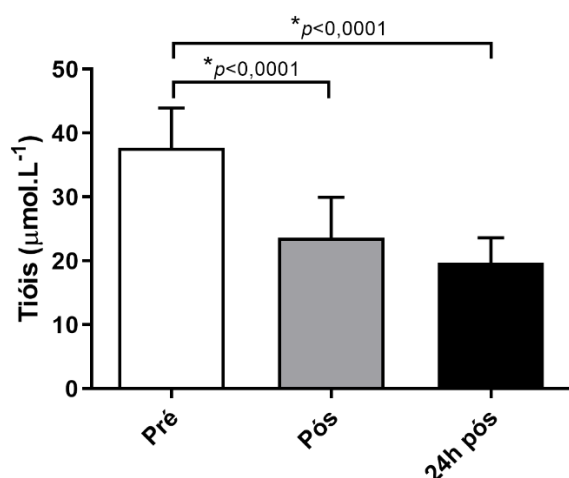


Figura 2 - Concentração de tióis não-proteicos. *= p<0,05.

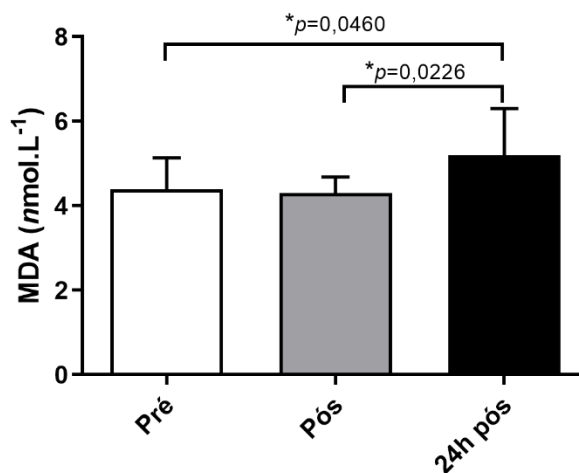


Figura 3 - Concentração plasmática de tióis não-proteicos. *= p<0,05.

A concentração de tióis não-proteicos foi maior imediatamente ($23,67 \pm 6,39 \mu\text{mol.L}^{-1}$) ($p<0,0001$) e 24 horas após a indução à exaustão ($19,67 \pm 3,93 \mu\text{mol.L}^{-1}$) ($p<0,0001$) quando comparada ao período imediatamente antes ($37,67 \pm 6,28 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e após o esforço (Figura 2).

A concentração sérica de MDA foi maior 24 horas depois do esforço ($5,19 \pm 1,11 \text{ nmol.L}^{-1}$) em relação aos momentos antes ($4,40 \pm 0,74 \text{ nmol.L}^{-1}$) ($p=0,0460$) e após o esforço ($4,29 \pm 0,39 \text{ nmol.L}^{-1}$) ($p=0,0226$) (Figura 3).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos revelam que os marcadores de estresse oxidativo avaliados pouco se alteram imediatamente após o esforço.

Contudo, as respostas dos antioxidantes e dano oxidativo são mais pronunciadas 24 horas após a indução à exaustão. Tal comportamento destas variáveis já foi evidenciado em triatletas (Neubauer e colaboradores, 2008).

Possivelmente, a coleta imediata do material biológico não permita que haja tempo hábil para que os marcadores de dano oxidativo produzidos por tecidos mais atuantes durante o esforço (i.e. músculos e coração) alcance a corrente sanguínea venosa, assim como para respostas antioxidantes nas células sanguíneas.

Entretanto, o intervalo de 24 horas após o esforço permite que as alterações no estresse oxidativo sejam constatadas no sangue.

No presente estudo, a atividade da SOD mostrou-se menor que os valores basais apenas no período imediatamente após a exaustão. Tal fato pode estar relacionado ao consumo aumentado da forma ativa da SOD diante à alta produção de ânion superóxido durante o esforço (Finaud, Lac e Filaire, 2006).

Ainda, o intervalo de 24 horas foi suficiente para recuperar a atividade da enzima, visto que não houve diferença entre os períodos pré e 24 horas após. A enzima SOD é a primeira enzima a combater as ERO produzidas pelo metabolismo mitocondrial. A enzima é responsável por catalisar a reação entre o ânion superóxido e água, formando peróxido de hidrogênio, utilizando-se de um metal para reduzir a Erro (Carocho e Ferreira, 2013).

A CAT é responsável por converter o peróxido de hidrogênio a água e O_2 . Desta maneira a CAT é fundamental para evitar o dano oxidativo (Carocho e Ferreira, 2013).

Os presentes resultados mostraram que o esforço exaustivo não alterou a atividade da enzima imediatamente após o esforço, e aumentou a mesma 24 horas após a exaustão. Ao contrário da SOD, a atividade da CAT não sofreu desgaste frente ao estresse induzido pelo exercício.

Ainda, os aumentos na atividade da enzima podem estar relacionados a um aumento na concentração de peróxido de hidrogênio, uma vez que este possui maior estabilidade e tempo de meia vida prolongado, fazendo com que sua detoxificação completa seja mais lenta (Finaud, Lac e Filaire, 2006).

Os resultados de atividade da CAT contradizem aos achados da literatura. Enquanto Neubauer e colaboradores (2008) encontraram redução da atividade da CAT após uma prova de triatlão, Aguiló e colaboradores (2005) não constataram nenhuma alteração da atividade da enzima após 3 ou 15 horas de recuperação.

Contudo, o estudo (Aguiló e colaboradores, 2005) mostrou um aumento na atividade da CAT imediatamente após o ciclismo de montanha de longa distância. Vale destacar que ambos os estudos (Aguiló e colaboradores, 2005; Neubauer e colaboradores, 2008) avaliaram as alterações da atividade da CAT em resposta a exercícios intensos de muito longa duração, diferente do presente trabalho, o que pode explicar as discrepâncias encontradas entre os resultados.

Os tióis não-proteicos são representados principalmente por GSH. Na presença deste peptídeo, o H_2O_2 sofre redução pelo pela ação da GPx, formando água e glutatona em sua forma oxidada (GSSG). Assim, os níveis de GSH refletem a capacidade antioxidante do sistema avaliado, e suas alterações indicam o consumo e resíntese desta molécula (Marí e colaboradores, 2009).

Os resultados do presente estudo indicam que a ação pró-oxidante induzida pelo esforço exaustivo tenha causado redução nos níveis de GSH, sendo que este efeito persistiu por pelo menos 24 horas. Inal e colaboradores (2001) constataram que tanto o exercício anaeróbico quanto aeróbico em intensidade máxima é capaz de reduzir os níveis de GSH plasmático.

Corroborando, Neubauer e colaboradores (2008) mostraram aumento na concentração de GSSG imediatamente e 3 horas após uma prova de triatlão, o que indica maior consumo de GSH. Entretanto, o GSSG retornou aos valores basais após 15 horas de recuperação. No presente estudo, 24 horas de recuperação não foram suficientes para recuperar a concentração basal de GSH, o que também pode estar relacionado a níveis elevados de H_2O_2 .

Os resultados sobre concentração plasmática de MDA sugerem que o esforço exaustivo promoveu a peroxidação lipídica, uma vez que esta molécula é produzida a partir do dano oxidativo aos lipídios (Ayala, Muñoz, e Argüelles, 2014), contudo o aumento nos níveis de MDA plasmático não foram expressivos imediatamente após o esforço, ao contrário do observado 24 horas após. Outros estudos também constataram que os marcadores plasmáticos de peroxidação lipídica não são aumentados imediatamente após exercício aeróbico de alta intensidade (Kabasakalis e colaboradores, 2011; Neubauer e colaboradores, 2008).

Os resultados sugerem que o MDA produzido durante o esforço exaustivo não é liberado na corrente sanguínea imediatamente.

Além disso, é possível inferir que, mesmo após a interrupção do exercício, o ataque oxidativo aos lipídios continue acontecendo, visto que o consumo de oxigênio continua aumentado após o fim do esforço, o que é potencializado em esforços muito intensos (McArdle, Katch, e Katch, 2010).

Assim, é possível que a produção de espécies reativas se mantenha aumentada mesmo após a finalização do protocolo de exercício, visto que o metabolismo mitocondrial é o principal produtor endógeno de ERO (Di Meo e Venditti, 2001), contribuindo para os níveis aumentados de MDA plasmático 24 horas após a exaustão.

Embora os presentes resultados corroborem com a maioria dos estudos que avaliaram estresse oxidativo em resposta ao exercício aeróbico, as características do protocolo de exercício aplicado são diferentes dos demais estudos, principalmente em relação a duração do esforço, podendo refletir das discrepâncias entre os resultados. Vale destacar ainda que a maioria dos estudos utilizam a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico como o marcador de peroxidação lipídica.

Contudo, estas substâncias incluem qualquer molécula que reaja com o ácido tiobarbitúrico, incluindo aldeídos, açúcares, bilirrubina e amino ácidos, fazendo com que os resultados sejam menos fidedignos, uma vez que o método possui pouca especificidade (Knight, Pieper e McClellan, 1988).

CONCLUSÃO

O exercício aeróbio incremental exaustivo eleva o dano oxidativo de corredores treinados, contudo as alterações nos marcadores não podem ser completamente verificadas imediatamente após o esforço, sendo mais pronunciadas após 24 horas.

As alterações nos mecanismos antioxidantes são pronunciadas imediatamente e 24 horas após a indução à exaustão.

Desta maneira, o exercício aeróbio exaustivo com intensidade progressiva promove o estresse oxidativo em corredores fundistas treinados, sendo que as alterações podem perdurar por 24 horas.

REFERÊNCIAS

1-Aebi H. Catalase in vitro. In: Methods in enzymology. Elsevier. 1984. p. 121-126. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687984050163>

2-Aguiló, A.; Tauler, P.; Fuentespina, E.; Tur, J.A.; Córdova, A.; Pons, A.; Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. Physiology & behavior. Vol. 84. Num. 1. 2005. p. 1-7. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938404004561>

3-Aslani, B.A.; Ghobadi, S. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. Life sciences. Vol. 146. 2016. p. 163-173. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320516300157>

4-Ayala, A.; Muñoz, M.F.; Argüelles, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxidative medicine and cellular longevity. Vol. 2014. 2014. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/360438/>

5-Carocho, M.; Ferreira, I.C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and chemical toxicology. Vol. 51. 2013. p. 15-25. Disponível

em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691512006941?via%3Dihub>

6-Di Meo, S.; Venditti, P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. Neurosignals. Vol. 1. Num. 1. 2001. p. 125-140.

7-Finaud, J.; Lac, G.; Filaire, E. Oxidative stress. Sports medicine. Vol. 36. Num.4. 2006. p. 327-258.

8-Hawley, J.A.; Leckey, J.J. Carbohydrate dependence during prolonged, intense endurance exercise. Sports Medicine. Vol. 45 Num. 1. 2015. p. 5-12. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs40279-015-0400-1>

9-Inal, M.; Akyüz, F.; Turgut, A.; Getsfrid, W.M. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. Medicine and science in sports and exercise. Vol. 33. Num. 4. 2001. p. 564-567.

10-Kabasakalis, A.; Kyparos, A.; Tsalis, G.; Loupos, D.; Pavlidou, A.; Kouretas, D. Blood oxidative stress markers after ultramarathon swimming. The Journal of Strength & Conditioning Research. Vol. 25. Num. 3. 2011. p. 805-811. Disponível em: https://journals.lww.com/nsca-jscr/fulltext/2011/03000/Blood_Oxidative_Stress_Markers_After_Ultramarathon.30.aspx

11-Knight, J.A.; Pieper, R.K.; McClellan, L. Specificity of the thiobarbituric acid reaction: its use in studies of lipid peroxidation. Clinical Chemistry. Vol. 34. Num. 12. 1988. p. 2433-2438.

12-Marí, M.; Morales, A.; Colell, A.; García-Ruiz, C.; Fernández-Checa, J.C. Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. Antioxidants & redox signaling. Vol. 11. Num. 11. 2009. p. 2685-700.

13-Marklund, S.; Marklund, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European journal of biochemistry. Vol. 47. Num. 3. 1974. p. 469-474.

14-Mastaloudis, A.; Leonard, S.W.; Traber, M.G. Oxidative stress in athletes during

extreme endurance exercise. Free Radical Biology and Medicine. Vol. 31. Num. 7. 2001. p. 911-922. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584901006670>

15-McArdle, W.D.; Katch, F.I.; Katch, V.L. Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance. Lippincott Williams & Wilkins. 2010.

16-Neubauer, O.; Koenig, D.; Kern, N.; Nics, L.; Wagner, K-H. No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. Medicine & Science in Sports & Exercise. Vol. 40. Num. 12. 2008. p. 2119-2128. Disponível em: https://journals.lww.com/acsm-msse/fulltext/2008/12000/No_Indications_of_Persistent_Oxidative_Stress_in.15.aspx

17-Nieman, D.; Dumke, C.; Henson, D.; McAnulty, S.; McAnulty, L.; Lind, R.; et al. Immune and oxidative changes during and following the Western States Endurance Run. International journal of sports medicine. Vol. 24. Num. 7. 2003. p. 541-547.

18-Romijn, J.; Coyle, E.; Sidossis, L.; Rosenblatt, J.; Wolfe, R. Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. Journal of Applied Physiology. Vol. 88. Num. 5. 2000. p. 1707-1714. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/pdf/10.1152/jap.2000.88.5.1707>

19-Sedlak, J.; Lindsay, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Analytical biochemistry. Vol. 25. 1968. p. 192-205.

20-Sies, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. Redox biology. Vol. 4. 2015. p. 180-183. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231715000038>

21-Tatum, V.L.; Changchit, C.; Chow, C.K. Measurement of malondialdehyde by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Lipids. Vol. 25. Num. 4. 1990. p. 226-229. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02535752>

22-Tsuchihashi, M. Zur kenntnis der blut katalase. Biochem Z. Vol. 140. 1923. p. 65-74.

23-Yavari, A.; Javadi, M.; Mirmiran, P.; Bahadoran, Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. Asian journal of sports medicine. Vol. 6. Num. 1. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4393546/pdf/asj-sm-06-24898.pdf>

4-Departamento de Nutrição, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG, Brasil.

E-mails dos autores:

alisoncg88@hotmail.com

lucasrigues82@gmail.com

mateuspterra@yahoo.com.br

jeffersasaki@gmail.com

guilherme.portari@uftm.edu.br

Endereço para correspondência:

Álison de Carvalho Gonçalves.

Av. Getúlio Guaritá, 159, Uberaba-MG.

CEP: 38025-440.

Recebido para publicação 16/09/2018

Aceito em 16/04/2019