

### ALTERAÇÕES DE MARCADORES DE LESÃO CELULAR E ATAQUE OXIDATIVO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO OVERTRAINING EM NATAÇÃO

Joaquim Maria Ferreira Antunes Neto<sup>1</sup>

#### RESUMO

O exercício exaustivo favorece o aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), induzindo oxidações de estruturas lipídicas e protéicas das membranas celulares. O objetivo deste trabalho foi investigar a correlação entre os níveis de peroxidação lipídica (dosagem de TBARS) e o extravazamento da enzima Creatina Quinase (CK) no plasma em camundongos submetidos a sessões de treinamento de natação e indução de *overreaching*. Foram utilizados 60 camundongos do tipo "Balb-C", obtidos do Centro de Bioterismo da UNICAMP. Os animais foram divididos em 3 grupos (n = 20): controle (G-C), treinamento (G-T), "overreaching" (G-Over). Os animais do grupo G-T realizaram treinamento progressivo, iniciando com sessões de 10 minutos e finalizando essa etapa com sessões de 60 minutos, que teve duração de 3 semanas. Os animais do grupo G-Over, além de passarem pelo treinamento citado, tiveram aumento no número diário de sessões de treinamento (até 4 vezes ao dia). O treinamento G-Over teve duração de 2 semanas. Os resultados mostraram aumentos significativos nos níveis de CK para os grupos G-T ( $36,8 \pm 5,35$  U/L;  $*p < 0.01$ ) e G-Over ( $98,4 \pm 4,39$  U/L;  $**p < 0.001$ ) em relação ao grupo CO ( $18,7 \pm 0,75$  U/L); da mesma forma para TBARS: grupos G-T ( $5,5 \pm 0,6$  nmol/mL;  $*p < 0.01$ ) e G-Over ( $10,76 \pm 0,75$  nmol/mL;  $**p < 0.001$ ) em relação ao grupo CO ( $2,66 \pm 0,81$  U/L). Concluindo, observamos um alto índice de correlação entre os parâmetros CK e TBARS ( $c=0.978$ ), sugerindo que a utilização das dosagens de CK, mas acessíveis e simplificadas, pode ser um importante instrumento para modulação das cargas de treinamento.

**Palavras-chave:** Natação, Estresse oxidativo, Creatina quinase, Peroxidação lipídica, Overtraining.

1-Laboratório de Estudos Multidisciplinares do Estresse (LEME-METROCAMP), Faculdades Integradas Metropolitanas de Campinas - METROCAMP

#### ABSTRACT

Changes in Cellular Damage and Oxidative Attack Markers in Mice Submitted to Swimming Overtraining

The exhaustive exercise promotes increased formation of reactive oxygen species (ROS), inducing lipids and proteins oxidations of cell membranes. The objective of this study was to investigate the relationship between the lipid peroxidation (TBARS) and Creatine Kinase (CK) plasma levels in mice submitted to swimming training and overreaching sessions. We used sixty mice like "Balb-C", obtained from the Center of Biotery-UNICAMP. The animals were divided into 3 groups (n = 20): control (CO), training (G-T) and overreaching (G-Over). The G-T performed progressive training, beginning with sessions of 10-minutes and finishing this step with 60-minute sessions, which lasted three weeks. The G-Over, after conducting the training sessions mentioned, had an increase in the number of daily training sessions (up to 4 times per day). The G-Over training lasted two weeks. The results showed significant increases in CK levels for the G-T ( $36,8 \pm 5,35$  U/L;  $*p < 0.01$ ) and G-Over ( $98,4 \pm 4,39$  U/L;  $**p < 0.001$ ) compared to CO ( $18,7 \pm 0,75$  U/L); the same as for TBARS: G-T ( $5,5 \pm 0,6$  nmol/mL;  $*p < 0.01$ ) and G-Over ( $10,76 \pm 0,75$  nmol/mL;  $**p < 0.001$ ) compared to CO ( $2,66 \pm 0,81$  U/L). In conclusion, we observed a high degree of correlation between the CK and TBARS plasma levels ( $c=0.978$ ), suggesting that the use of measures of CK, a parameter more accessible and simple, can be an important tool for modulation of training loads.

**Key words:** swimming, oxidative stress, creatine kinase, lipid peroxidation, overtraining.

E-mail:  
joaquim\_netho@yahoo.com.br

Endereço para correspondência:  
Rua Dr. Sales de Oliveira, 1661  
Vila Industrial. Campinas - SP  
CEP: 13035-270

### INTRODUÇÃO

Uma das possibilidades do estudo das respostas do estresse oxidativo está no monitoramento do treinamento de atletas. Como tais estudos ainda carecem de muitas respostas, as pesquisas básicas, com utilização de animais, podem trazer informações relevantes.

As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), também conhecidas como radicais livres, são formadas, principalmente, pela redução incompleta do oxigênio nos processos de geração de energia. O oxigênio consumido tem como principal via de metabolismo o sistema aeróbio, ou seja, a mitocôndria (Antunes Neto e colaboradores, 2006).

Esse sistema é responsável pela utilização de 85 a 90% de todo o oxigênio consumido, com os outros 10 a 15% sendo utilizados por enzimas oxidases e oxigenases e por reações químicas de oxidação direta. Dos 85 a 90% de oxigênio que chega a cadeia de transporte de elétrons, 2 a 5% são reduzidos unilateralmente em metabólitos, tal como as EROs (Schneider, Oliveira, 2004).

Durante a atividade física o consumo de oxigênio pode aumentar em até 20 vezes e a captação do mesmo pelos músculos ativos pode aumentar em até 100 vezes, favorecendo, dessa maneira a formação de EROs (Antunes Neto e colaboradores, 2005).

O estresse oxidativo ocorre em circunstâncias nas quais há desequilíbrio entre os sistemas prooxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes (Schneider, Oliveira, 2004).

Dentro de uma estratégia de manutenção do estado redox contra condições oxidantes, o sangue exerce um papel fundamental, fazendo o transporte e redistribuição dos antioxidantes para todo o corpo; dessa maneira, a capacidade antioxidante no sangue pode nos dar estimativas dos níveis de estresse oxidativo, permitindo um modo de mensuração menos invasivo que por outras vias, como pela biopsia (Antunes Neto e colaboradores, 2006).

Para livrar o organismo dos efeitos deletérios das EROs, há sistemas antioxidantes divididos em duas classes: o sistema não enzimático, composto principalmente por  $\beta$ -caroteno (pro vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e alfa tocoferol (vitamina E), e o sistema enzimático,

com a catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR) e superóxido desmutase (SOD) como as principais enzimas (Powers e colaboradores, 2004).

Segundo Schneider e Oliveira (2004), as EROs são produzidas naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos, sendo importantes em situações de necessidade de ativada do sistema imunológico. Por outro lado, a produção excessiva de EROs pode levar a situação de estresse oxidativo com subseqüentes efeitos prejudiciais ao organismo, tais como peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, agressão a carboidratos e ao ácido desoxirribonucleico (DNA) e liberação de enzimas intramusculares (CK).

Quando não há um sincronismo otimizado entre carga de esforço, tempo de recuperação ao exercício e uma metodologia adequada para o desenvolvimento do condicionamento atlético, pode ocorrer uma sobrecarga de determinado sistema biológico, ocasionando superatividades metabólica e funcional e até mesmo desintegração dos sistemas de defesa do organismo (Bompa, 1990).

Neste caso, estamos falando da síndrome do supertreinamento ou *overtraining*. Os sinais associados a esta síndrome são alta fadigabilidade e outros distúrbios, tais como respostas inflamatórias, aumento de citocinas circulantes no sangue, desbalanço nutricional, distúrbios hormonais, indisposição ao treinamento físico, que resultam em diminuição do rendimento e aumento na susceptibilidade a lesões (Lehmann e colaboradores, 1993; Eichner, 1995; Hooper e colaboradores, 1995; Kuipers, 1996; Tiidus, 1998; Lehmann e colaboradores, 1998; Kreher, Schartz, 2012).

O *overtraining*, uma vez instalado, não é facilmente revertido, podendo levar várias semanas ou meses para ocorrer a recuperação (Kuipers, Keizer, 1988).

O início do *overtraining* é conhecido na literatura como *overreaching* e se instala quando o repouso entre o próximo treinamento ou competição é insuficiente (Bruin e colaboradores, 1994, Tiidus, 1998; Lehmann e colaboradores, 1998).

Embora esta condição também induza fadiga prematura, pois a recuperação é incompleta, pode ser facilmente revertida com

um ou dois dias de pouco ou nenhum treino. Entretanto, como pouco é conhecido em relação à quantidade ótima de treinamento e os fatores que influenciam a recuperação e supercompensação, ainda hoje existe um componente muito grande de empirismo na aplicação dos métodos de treinamento, que são na sua grande maioria empregados sem muita base científica.

Poucos são os trabalhos que buscam indicar marcadores confiáveis de instalação de *overreaching/overtraining* e, até mesmo, em sugerir valores de referência para modulação das cargas de treinamento (Lazarim e colaboradores, 2009).

Por meio de estratégia de experimentação animal, o objetivo foi observar o padrão de correlação entre peroxidação lipídica (dosagem de TBARS), que é um marcador metabólico de lesão por estresse oxidativo, e magnitude das microlesões celulares (dosagem de CK), vista como evento resultante, sobretudo, de intervenções mecânicas na célula muscular. Com isso, propiciaremos aprofundamento desta temática sobre determinação de indicadores satisfatórios de diagnóstico do quadro de *overtraining*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais

Utilizou-se 60 camundongos do tipo "Balb-C", obtidos do Centro de Bioterismo da UNICAMP. Os animais foram divididos em 3 grupos: controle (G-C, n = 20), treinamento (G-T, n = 20), "overtraining" (G-Over, n = 20).

Durante toda a execução dos protocolos, os camundongos foram mantidos em ambiente controlado, com temperatura de 18 - 22°C e fotoperíodo invertido de 12 horas, estando providos de ração de laboratório e água *ad libitum*.

Todos os procedimentos experimentais estavam de acordo com as normas estabelecidas pelo Comitê Interno de Ética da Instituição e das resoluções específicas (Lei nº 6.638, de 08 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934).

### Treinamento

Os camundongos passaram por um período de adaptação ao treinamento de

natação, com duração de uma semana (15 minutos de sessão de treino).

Após o período de natação, os camundongos passaram a nadar cinco vezes por semana (segunda a sexta-feira), por um período de quatro semanas, com o tempo de sessão de treinamento elevando-se de 20 minutos até 60 minutos. Após esse período, um lote de camundongos foi sacrificado para análise desta fase sistematizada de treinamento (G-T). Os animais sobreviventes ao treinamento descrito foram submetidos a um novo ciclo de treinamento, o qual classificamos como fase de *overtraining* (G-Over), consistindo de aumento progressivo semanal de uma sessão de treino, até chegar a quatro sessões de treino por dia, com duração de 60 minutos cada sessão.

### Coleta de Sangue

Amostras de sangue foram coletadas da veia hepática, utilizando seringas heparinizadas. O plasma foi separado das hemácias por centrifugação a 1.000g por 10 minutos e então transferidas para um tubo novo e armazenadas a -80°C até a análise.

### Dosagem Enzimática de Creatina Quinase

A concentração de CK no sangue reflete índices de lesão muscular. A dosagem deste parâmetro foi realizada espectrofotometricamente (Boehringer Mannheim MPR 3 kit CK NAC-activated), através de 50 µL de plasma misturados com a solução reagente. A mistura foi incubada em banho maria por 1 minuto a 37° C, sendo feita a leitura das absorvâncias em 334 nm.

### Dosagens de Peroxidação Lipídica (TBARS)

Um dos métodos para quantificação dos produtos da peroxidação lipídica é o método de análise da formação de substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Este método consiste na análise dos produtos finais da peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos, malondialdeídos e demais aldeídos de baixo peso molecular) que, ao reagirem com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), formam bases de Schiff.

Tais complexos são coloridos e sua concentração pode ser determinada espectrofotometricamente a 535nm, ou por fluorescência a 515 nm de excitação e 555 nm de emissão (Yagi, 1987).

A amostra foi preparada de acordo com Yagi (1987), onde 20 $\mu$ L de plasma foram diluídos em 4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,04M). Adicionamos a esta diluição 0,5 mL de ácido fosfotungstico 10% e aguardamos 5 minutos para a centrifugação a 3000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi descartado e suspendemos o precipitado em 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,04 mL), seguindo da adição de 0,3 mL de ácido fosfotungstico 10%. Após centrifugação a 3000 rpm por 10 min, descartamos novamente o sobrenadante e dissolvemos o precipitado em 0,5 mL de H<sub>2</sub>O deionizada. Adicionamos a essa mistura 1 mL da solução composta de ácido tiobarbitúrico 0,67% em ácido acético 50%.

A amostra foi incubada em banho maria 90°C por 1 hora. Após o resfriamento, foi efetuada a extração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) com 5 mL de butanol.

A medida da emissão da fluorescência da fase orgânica foi feita a 553 nm, enquanto que o comprimento da onda de excitação foi 515nm (espectrofluorímetro modelo SPF-500CTM SLM Aminco - SLM Instruments, Inc). O cálculo da concentração de TBARS foi feito por meio de uma curva-padrão de

tetraetoxipropano e os resultados expressos em nmol/mL de plasma.

### Dosagens de Parâmetros Fisiológicos

A liberação da enzima aspartato transaminase (AST) e as concentrações de uréia (UR) e creatinina (CRE) no plasma foram analisada através de dosagens espectrofotométricas (kits específicos Laborlab<sup>®</sup>).

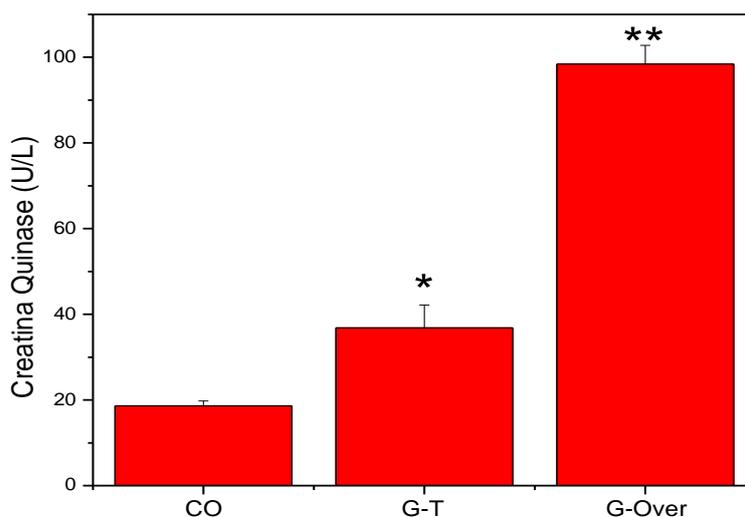
### Análises Estatísticas

Os gráficos foram realizados pelo programa Origin 6.0 e o tratamento estatístico por meio do programa GraphPad InStat<sup>®</sup> (San Diego, CA). Utilizamos o teste ANOVA para amostras pareadas e, como pós-teste, foi adotado o teste de Tukey. Valores de  $P < 0.05$  foram considerados significativos. O teste de correlação foi predito pelo coeficiente de correlação de Pearson.

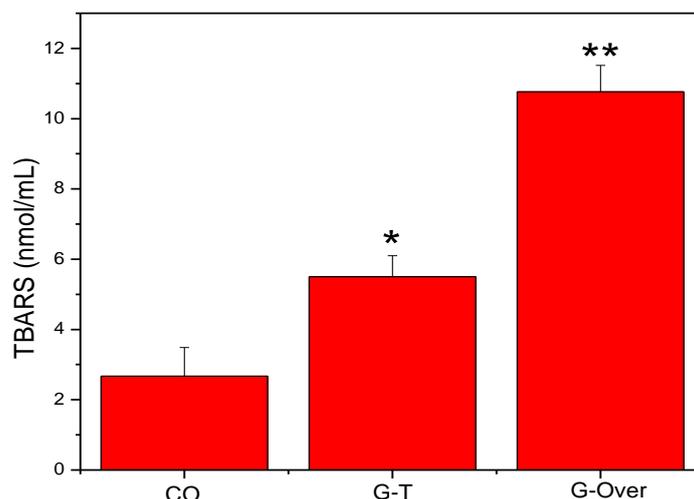
## RESULTADOS

### Marcador de Lesão Celular

**Figura 1** - Níveis plasmáticos de Creatina Quinase (CK) em animais submetidos a treinamento de natação e ciclo de *overttraining*. Onde = \* $p < 0.01$  em relação ao grupo CO; \*\* $p < 0.001$  em relação aos grupos CO e G-T



**Figura 2** - Níveis plasmáticos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em animais submetidos a treinamento de natação e ciclo de overtraining. Onde = \* $p < 0.01$  em relação ao grupo CO; \*\* $p < 0.001$  em relação aos grupos CO e G-T



### Marcador de Ataque Oxidativo

A Figura 1 apresenta aumentos significativos da enzima CK no plasma para os grupos G-T ( $36,8 \pm 5,35$  U/L; \* $p < 0.01$ ) e G-Over ( $98,4 \pm 4,39$  U/L; \*\* $p < 0.001$ ) em relação ao grupo CO ( $18,7 \pm 0,75$  U/L). Houve também significância ( $p < 0.001$ ) entre o G-Over e o G-T.

Tal como visto para os valores de CK, os dados da **Figura 2** mostram a mesma tendência de aumentos significativos para níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma: os grupos

G-T ( $5,5 \pm 0,6$  nmol/mL; \* $p < 0.01$ ) e G-Over ( $10,76 \pm 0,75$  nmol/mL; \*\* $p < 0.001$ ) em relação ao grupo CO ( $2,66 \pm 0,81$  U/L); houve também significância ( $p < 0.001$ ) entre o G-Over e o G-T.

O índice de correlação entre os parâmetros de CK e TBARS obtido foi de  $c = 0.978$ , demonstrando elevada condição de que a peroxidação lipídica e microlesões induzidas (níveis de CK) pelos exercícios podem ser avaliadas de forma linear.

### Marcadores de Alterações Celulares

**Tabela 1** - Níveis plasmáticos de Aspartato Transaminase (AST), Creatinina (CRE) e Uréia (UR) em animais submetidos a treinamento de natação e ciclo de overtraining. Onde = \* $p < 0.01$  em relação ao grupo CO; \*\* $p < 0.001$  em relação aos grupos CO e G-T.

	Controle (Co)	Treinamento (G-T)	Overtraining (G-Over)
AST (U/L)	11,50 ± 1,67	12,75 ± 0,63	35,58 ± 1,27 **
Creatinina (mg/dL)	2,15 ± 0,35	3,59 ± 0,15	5,16 ± 1,04 *
Uréia (mg/dL)	9,4 ± 1,27	10,61 ± 0,63	29,34 ± 3,65 **

Em concordância com as análises de CK e TBARS, os valores obtidos para a enzima aspartato transaminase (AST), Creatinina (CRE) e Uréia (UR), dosadas no plasma (Tabela 1), mostraram maior precipitação no momento de aplicação da carga para indução de *overtraining*.

### DISCUSSÃO

Medidas para predição da condição física do atleta sempre foram executadas de acordo com os princípios da modalidade, muitas vezes sem um rigor metodológico que propicie elaboração de dados confiáveis para dosagem e estabelecimento de intervalos de

referências confiáveis para monitoração e modulação das cargas de treinamento (Lazarim e colaboradores, 2009).

O princípio da sistematização do treinamento desportivo depende de multifatores para a manutenção de um planejamento ótimo de sequências de cargas de exercícios, de forma que há a necessidade constante de buscar a reorganização destas para a garantia de obtenção das respostas adaptativas desejadas (Fry, 1988).

Com o desenvolvimento das Ciências do Esporte e de metodologias básicas aplicadas em laboratórios de pesquisas, os princípios das adaptações orgânicas e, sobretudo, da individualidade biológica, passaram a proporcionar uma agregação de valores importantes para um melhor conhecimento do comportamento do padrão adaptativo do atleta, bem como da criação de um perfil que localize o sujeito em relação a um "score" do grupo e da sua capacidade de reserva adaptativa ao pensarmos no desenvolvimento de um plano plurianual.

Desta forma, a utilização de animais em pesquisas que envolvem incremento progressivo e drástico de exercícios, em consonância com as políticas de ética experimental, tende a colaborar para a obtenção de condições mais seguras de determinação de uma sobrecarga ideal (Antunes Neto e colaboradores, 2008).

A quantificação dos níveis de estresse oxidativo permite o monitoramento do estado de treinamento do atleta, dando margens para a modulação das cargas de treino (Antunes Neto e colaboradores, 2005).

Como mostrado por Antunes Neto e colaboradores (2007), as respostas moleculares (índices de CK e TBARS) precedem as respostas fisiológicas (sobretudo, CRE e UR) na instalação de um quadro de estresse oxidativo, podendo dar indícios do efeito do treinamento sobre o organismo.

Os dados apresentados na **Tabela 1** confirmam tal premissa. O aumento nos níveis de CRE indica elevação da degradação das bases purínicas, do mesmo modo que a concentração de UR no plasma confirma uma condição de catabolismo protéico para o G-Over.

O maior valor de UR pode advir de um provável ataque oxidativo sobre as proteínas estruturais e de uma deficiência do "turnover" protéico, uma vez que o processo de

ressíntese dos aminoácidos é feito no fígado, e tal órgão poderia se encontrar em deficiência pelo fato da exaustão. Esta condição poderia explicar os valores aumentados da AST, que é uma enzima com grande concentração neste órgão (Antunes Neto e colaboradores, 2008).

Pelo fato das maiores precipitações de AST, CRE e UR terem ocorrido em condição de *overreaching*, reforça-se a idéia de que tais marcadores podem ser úteis para confirmação da instalação de um quadro lesivo mais grave.

Portanto, há a necessidade de se conhecer marcadores mais efetivos para identificação antecipada de um possível quadro de *overreaching*.

Os dados para CK (**Figura 1**) e TBARS (**Figura 2**), neste trabalho, mostraram concordância na idéia de predição de instalação de uma situação severa de estresse oxidativo.

Estudo prévio Antunes Neto e colaboradores (2006) indicou que a atividade antioxidante celular (valores para as enzimas Catalase e Glutathione Redutase e dos níveis endógenos de Grupamentos Sulfidrilas) sofre elevação mais aguda somente após a ocorrência do aumento do ataque oxidativo e de alterações musculares.

Tal condição seria uma estratégia molecular de atenuação do estresse oxidativo, sugerindo que um treinamento sistematizado e devidamente controlado pode ser capaz de modular a célula para um novo estado redox e combater os efeitos deletérios causados pelas EROs.

A literatura mostra evidências de que o estresse oxidativo induzido pelo exercício é fonte de relevante colaboração com os mecanismos lesivos nas células musculares, retículo sarcoplasmático, estruturas de membranas e, principalmente do DNA (Duarte e colaboradores, 1994).

Eventos secundários, como infiltração de células inflamatórias e fagocitárias no interior celular, atuam de forma agressiva na desorganização de Linhas Z, Bandas A e incapacidade de acoplamento das pontes cruzadas, que contribui ainda mais com a desestabilização do sarcômero e do retículo sarcoplasmático (Byrd, 1992).

O aumento da concentração de cálcio ativa classes de fosfolipases – sobretudo fosfolipase A – e de proteases sensíveis à sua, desencadeando eventos em cascata de degradação de demais estruturas celulares,

até, por fim, em estado extremo, conduzir a instalação da apoptose (morte celular). O extravazamento da enzima CK é um dos eventos mais conhecidos nestas condições degenerativas (Armstrong, 1990).

Da mesma forma, índices de peroxidação lipídica proporcionam investigações para avaliação dos dados induzidos pelas EROs em sítios com farta presença de fosfolípidos, tais como nas membranas biológicas (De Zwart e colaboradores, 1999).

O TBARS é um método para marcação de peroxidação lipídica que se baseia na reação do malonaldeído (MDA) com o ácido tiobarbitúrico (TBA), permitindo análises espectrométricas e fluorimétricas do objeto final de estudo – MDA – da oxidação de lípidios (Janero, 1990).

A alta correlação entre níveis plasmáticos de CK e TBARS ( $r=0.978$ ) parece ser em decorrência dos eventos concomitantes desencadeados tanto por estresse mecânico (maior liberação de CK intramuscular) quanto por estresse metabólico (níveis elevados de TBARS).

A instalação de processos inflamatórios localizados na célula, em virtude das microlesões celulares, aumenta ainda mais a liberação de CK do músculo e induz que as células fagocitárias liberem fatores geradores de EROS, atacando, em uma fase praticamente simultânea, estruturas lipídicas das membranas celulares.

O aumento em permeabilidade resultante potencializa ainda mais o quadro lesivo já deflagrado (Armstrong, 1990; Duarte e colaboradores, 1994).

## CONCLUSÃO

Voltamos a salientar que o ponto principal deste artigo foi apresentar correlação entre níveis de peroxidação lipídica e concentração de CK no plasma. Tal fato pode estar relacionado a vários fatores concorrentes.

Sabe-se que o distúrbio das membranas biológicas, na perspectiva do estresse oxidativo, pode ter seu início com o ataque das EROs geradas tanto por inventos internos celulares – disfunções da cadeia de transporte de elétrons ou de atividade de células imunológicas – ou de EROs circulantes na própria corrente sanguínea. Porém,

pensando-se em treinamento esportivo, a atividade mitocondrial desestabilizada ou acelerada (em situação de anóxia/perfusão), pode contribuir, em muito, com a formação de uma castata de eventos destrutivos da estruturas lipídicas (Tiidus, 1998; Smolka e colaboradores, 2000).

Outro dado interessante é a análise plasmática de CK. A CK localiza-se próxima ao sarcolema, de forma que qualquer alteração nas propriedades de membrana pode levar a um extravazamento desta para meio extracelular (Zoppi e colaboradores, 2006).

Quando se observa de forma isolada os marcadores de CK e TBARS, deve-se haver cautela para análise para geração de diagnósticos. A correlação destes marcadores permite sugerir, com devidos respaldos, que microlesões celulares, aumento de permeabilidade de membranas biológicas e lipoperoxidação podem fazer parte de um evento integrado de deterioração celular, consequência direta da instalação dos processos de estresse oxidativo.

A utilização da dosagem de CK plasmática, que se faz por estratégias mais facilitadoras em relação a TBARS, surge como um instrumento de avaliação da carga de treinamento, necessitando estudos posteriores para delimitação de um índice ou limiar de estresse.

## REFERÊNCIAS

- 1- Antunes Neto, J. M. F.; Pereira-da-Silva, L.; Macedo, D. V. Biomarcadores de estresse oxidativo: novas possibilidades de monitoramento em treinamento físico. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*. Vol. 13. Num. 2. 2005. p. 73-79.
- 2- Antunes Neto, J. M. F.; Pereira-da-Silva, L.; Macedo, D. V. Heat shock proteins as oxidative stress markers in rats submitted to exhaustive intermittent running training. *Brazilian Journal of Biomechanics*. Vol. 2. Num. 3. 2008. p. 160-175.
- 3- Antunes Neto, J. M. F.; Pilatti, L. S.; Agostinho Filho, J. P.; Magalhães, N. P. Kinetic of oxidative and physiological stress markers in exhaustive running condition. *Revista Brasileira de Educação Física*,

- Esporte, Lazer e Dança. 2007. Vol. 2. Num 3. p. 56-68.
- 4- Antunes Neto, J. M. F.; Toyama, M. H.; Carneiro, E. M.; Boschero, A. C.; Pereira-da-Silva, L.; Macedo, D. V. Circulating leukocyte heat shock protein 70(hsp70) and oxidative stress markers in rats after a bout of exhaustive exercise. *Stress*. Vol. 9. Num 2. 2006. p. 107-115.
- 5- Armstrong, R. B. Initial events in exercise-induced muscular injury. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Vol 22. Num. 4. 1990. p. 429-435.
- 6- Bompa, T. O. Theory and methodology of training: to key to athletic performance. Dubuque: Kendall/Hunt; 1990.
- 7- Bruin, G.; Kuipers, H.; Keizer, H. A.; Vandervusse, G. J. Adaptation and overtraining in horses subjected to increasing training loads. *Journal of Applied Physiology*. Vol. 76, Num. 5. 1994. p. 1908-1913.
- 8- Byrd, S. K. Alterations in the sarcoplasmic reticulum: a possible link to exercise-induced muscle damage. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Vol 24. Num 5. p. 531-536.
- 9- Duarte, J. A.; Carvalho, F.; Bastos, M. L. Do invading leucocytes contribute to the decrease in glutathione concentrations indicating oxidative stress in exercised muscle, or are they important for its recovery? *European Journal of Applied Physiology*. Vol. 68. Num 1. 1994. p. 48-53.
- 10- Eichner, E. R. Overtraining: consequences and prevention. *Journal of Sports and Science*. Vol. 13. 1995. p. S41-S48.
- 11- Fry, A. C. The role of training intensity in resistance exercise-overtraining and overreaching. In: Kreider, R. B. et al. (editors). *Overtraining in Sport*. Champaign, IL: Human Kinetics; 1998. p. 107-130.
- 12- Hooper, S. L.; Mackinnon, L. T.; Howard, A. Markers for monitoring overtraining and recovery. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Vol. 27. Num 1. 1995. p. 106-112.
- 13- Janero, D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical in Biology and Medicine*. Vol 9. Num 6. 1990. p. 515-540.
- 14- Kreher, J. B.; Schartz, J. B. Overtraining syndrome: a practical guide. *Sports Health*. Vol. 4. Num. 2. 2012. p. 128-138.
- 15- Kuipers, H. Training and overtraining: an introduction. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Vol. 30. Num. 7. 1998. p. 1137-1139.
- 16- Kuipers, H.; Keizer, H. A. Overtraining in elite athletes: review and directions for the future. *Sports Medicine*. Vol. 6. Num. 4. 1988. p. 79-92.
- 17- Lazarim, F. L.; Antunes Neto, J. M. F.; Silva, F. O. C.; Nunes, L. A. S.; Bassani-Cameron, A.; Cameron, L.; Brenzikofer, R.; Macedo, D. V. The upper values of plasma creatine kinase of professional soccer players during the Brazilian National Championship. *Journal of Science and Medicine in Sport*. Vol. 12. Num. 1. 2009. p. 85-90.
- 18- Lehmann, M.; Foster, C.; Dickhuth, H. H.; Gastmann, U. Autonomic imbalance hypothesis and overtraining syndrome. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Vol 30. Num. 7. 1998. p. 1140-1148.
- 19- Lehmann, M.; Foster, C.; Keul, J. Overtraining in endurance athletes: a brief review. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Vol. 25. Num. 7. p. 854-862.
- 20- Powers, S. K.; Criswell, D.; Lawler, J.; Ji, L. L.; Martin, D.; Herb, R.A.; Dudley, G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology*. Vol. 266. 1994. p. R-375-R380.
- 21- Schneider, C. D.; Oliveira, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. Vol. 10. Num 4. 2004. p. 308-313.

## Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício

ISSN 1981-9900 *versão eletrônica*

Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício

[www.ibpex.com.br](http://www.ibpex.com.br) / [www.rbpfex.com.br](http://www.rbpfex.com.br)

---

22- Smolka, M. B.; Zoppi, C. C.; Alves, A. A.; Silveira, L. R.; Marangoni, S.; Pereira-da-Silva, L.; Macedo, D. V. HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *American Journal of Physiology*. Vol. 279. 2000. p. R1539-R1545.

23- Tiidus, P. M. Radical species in inflammation and overtraining. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. Vol. 76. Num. 5. 1998. p. 533-538.

24- Yagi, K. Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids*. Vol. 45. 1987. p. 337-51.

25- Zoppi, C.C.; Hohl, R.; Silva, F. C.; Lazarim, F.; Antunes Neto, J. M. F.; Stancanneli, M., Macedo, D. V. Vitamin C and E supplementation effects in professional soccer players under regular training. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. Vol. 3. Num. 2. 2006. p. 37-44.

Recebido para publicação 20/04/2012

Aceito em 25/04/2012