

NÍVEIS DE ESTRESSE OXIDATIVO E ALTERAÇÕES CELULARES EM TENISTAS JUVENIS DURANTE UM PERÍODO COMPETITIVO

Joaquim Maria Ferreira Antunes Neto^{1,2}, Caio Cesar Donadon³
Bruna Bergo Nader¹, Daniela Cristina Sandy Turolle¹, Elaine Ribeiro^{1,2}

RESUMO

O exercício físico induz aumento no consumo de oxigênio, bem como na demanda energética. O aumento no consumo de oxigênio conduz elevação na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Dependendo da sua concentração, as EROs reagem com estruturas celulares, tais como membranas, componentes mitocondriais e elementos do DNA, podendo levar até a morte do DNA (apoptose). O aumento do desempenho atlético pode ter relação direta com a capacidade antioxidante, atenuando o potencial oxidativo celular. O objetivo deste trabalho foi investigar o comportamento dos níveis plasmáticos de alterações celulares, por meio de análises de peroxidação lipídica (TBARS) e do extravasamento de creatina quinase (CK), bem como da modulação antioxidante da enzima catalase (CAT) e dos grupamentos sulfidrílica totais (GST), no eritrócito, de tenistas masculinos juvenis em período competitivo. Três momentos foram analisados: Análise 1 (TBARS: $3,27 \pm 0,91$ nmol/mL; CK: 235 ± 37 U/L; CAT: $0,53 \pm 0,08$ k/gHb/min; GST: 555 ± 49 μ M); Análise 2 (TBARS: $5,3 \pm 1,15$ nmol/mL; CK: 476 ± 34 U/L; CAT: $0,56 \pm 0,09$ k/gHb/min; GST: 560 ± 56 μ M); Análise 3 (TBARS: $4,6 \pm 0,54$ nmol/mL; CK: 340 ± 17 U/L; CAT: $0,5 \pm 0,07$ k/gHb/min; GST: 547 ± 38 μ M). Os valores antioxidantes permaneceram elevados em relação a sujeitos saudáveis não atletas, demonstrando adaptação ao treinamento; contudo, houve aumentos significativos de TBARS e CK para as análises 2 e 3 em relação à análise 1 e alto índice de correlação ($c=0,952$). Concluindo, podemos sugerir que a utilização de dosagens mais simplificadas, como a de CK plasmática, pode indicar a extensão dos níveis de estresse oxidativo instalados na célula muscular, bem como delimitar índices de segurança que permitam estabelecer a modulação das cargas de treinamento do atleta.

Palavras-chave: Radicais livres, Creatina quinase, Peroxidação lipídica, Grupamentos sulfidrílica, Treinamento.

ABSTRACT

Oxidative Stress Levels and Muscle Cell Changes in Young Tennis Players During a Competitive Period

Exercise induces an increase in oxygen consumption and energy demand. The increase in oxygen consumption leads to increased production of reactive oxygen species (ROS). Depending on your concentration, ROS react with cellular structures such as membranes, components and elements of the mitochondrial DNA, which can lead to death of DNA (apoptosis). The increased athletic performance in recent years is directly related to research that modulate the antioxidant capacity of athletes, reducing the potential oxidative cell. The aim of this study was to investigate the behavior plasma levels of cellular changes through analyses of lipid peroxidation (TBARS) and leakage of creatine kinase (CK) and the modulation of antioxidant enzyme catalase (CAT) and total sulfhydryl groups (TSG) in erythrocytes of young males tennis players in a competitive period. Three moments were analyzed: Analysis 1: (TBARS: 3.27 ± 0.91 nmol/mL; CK: 235 ± 37 U/L; CAT: 0.53 ± 0.08 k/gHb/min; TSG: 555 ± 49 μ M); Analysis 2 (TBARS: 5.3 ± 1.15 nmol/mL; CK: 476 ± 34 U/L; CAT: 0.56 ± 0.09 k/gHb/min; TSG: 560 ± 56 μ M); Analysis 3 (TBARS: 4.6 ± 0.54 nmol/mL; CK: 340 ± 17 U/L; CAT: 0.5 ± 0.07 k/gHb/min; TSG: 547 ± 38 μ M). The values of antioxidants remained elevated compared to subjects healthy non-athletes, demonstrating adaptation to the training; however, there were significant increases in Analysis 2 and Analysis 3 for TBARS and CK in relationship to Analysis 1 ($p < 0.001$; $p < 0.05$, respectively) and high correlation index ($c = 0.952$). In conclusion, we suggest that the use of dosages over simplified, as the plasma CK, may indicate the extent of oxidative stress levels in muscle cells, as well as defining levels of security for determining the modulation of training loads.

Key words: Free radicals, Creatine kinase, Oxidative stress, Training.

INTRODUÇÃO

O monitoramento dos marcadores de estresse oxidativo é uma das possibilidades de estudos do treinamento esportivo. As espécies reativas de oxigênio (EROs), ou radicais livres, são formadas pela redução incompleta do oxigênio (O_2) 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 O_2 consumido, de forma que os demais 10 a 15% são utilizados por enzimas oxidases e oxigenases e por reações químicas de oxidação direta. De todo o O_2 que chega à cadeia de transporte de elétrons, 2 a 5% são reduzidos unilateralmente em metabólitos, tal como as EROs (Schneider e Oliveira, 2004).

Durante a atividade física, o consumo de oxigênio pode aumentar até 20 vezes e sua captação 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 e 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 β -caroteno (pro vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e alfa tocoferol (vitamina E) e grupamentos sulfidríla totais livres (GST), e o sistema enzimático, com a catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPX), glutatona redutase (GR) e superóxido desmutase (SOD) como as principais enzimas (Power e colaboradores, 1994).

O presente estudo analisou a atividade da CAT, que é uma enzima que faz a desmutação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), formado ao final da cadeia de transporte de elétrons, em água (H_2O) e O_2 .

Como marcador não enzimático antioxidante, analisou-se a quantidade de GSH livre no plasma, uma vez que a integridade deste composto tem relação direta com os eventos oxidativos de proteínas plasmáticas (Halliwell e Gutteridge, 1989).

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 e a instalação do estresse oxidativo pode trazer efeitos prejudiciais às células, tais como peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, agressão a carboidratos e ao ácido desoxirribonucleico (DNA) (Antunes Neto e colaboradores, 2005).

Como marcador de estresse oxidativo foram realizadas dosagens de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), tais como peróxidos lipídicos, malondialdeídos e demais aldeídos de baixo peso molecular (Yagi, 1976).

A alteração de permeabilidade de membranas celulares por estresse oxidativo permite o extravasamento de enzimas no sangue, sendo as principais encontradas a creatina quinase (CK; analisada neste estudo), lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase e mioglobina (Antunes Neto e colaboradores, 2007; Fridén e Lieber, 1992; Lieber e colaboradores, 1986).

Porém, a literatura não apresenta dados consistentes sobre a dinâmica de flutuação de marcadores oxidantes e antioxidantes para a modalidade de tênis de campo, principalmente para atletas jovens que já se encontram em alto nível competitivo.

O objetivo deste estudo foi compreender o reflexo modulatório integrado dos marcadores apresentados em situação limite de esforço do organismo, durante um mesociclo competitivo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

Participaram do estudo 5 tenistas de campo de nível competitivo, do Centro de Excelência de Tênis de Campo de Campinas, categoria juvenil masculina, federados, com idades de $18,3 \pm 1,8$ anos, massa corporal de $74,2 \pm 2,3$ Kg e altura de $1,84 \pm 3,3$ m. Todos os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido de voluntariado, de acordo com as normas estabelecidas pela Comitê de Ética de Pesquisa da METROCAMP (protocolo 01/2008), respeitando a resolução específica do Conselho Nacional de Saúde (n0196/96).

Análises

Ao todo, foram realizadas três análises durante o período competitivo, ao longo de três semanas consecutivas, no período vespertino, antecedendo a sessão de treino.

A primeira análise (Análise 1) ocorreu uma semana antes do principal torneio da temporada, que tinha duração de uma semana; a segunda análise (Análise 2) ocorreu 48 horas após a disputa dos primeiros jogos da competição; e a terceira análise (Análise 3) ocorreu após uma semana do término do torneio ou com a desclassificação do atleta.

Coleta de Sangue

5mL de sangue foram coletados. Plasma e hemácias foram obtidos após centrifugação, por 10 min a 3000 rpm. O plasma obtido foi separado e armazenado a -80 °C depois de tratado com butilhidroxitolueno (BHT) $90 \mu\text{M}$, este que atua como um seqüestrador específico de EROs. As hemácias foram lavadas com solução gelada de tampão fosfato $0,1\text{M}$ com NaCl $0,9\%$, pH $7,4$, e centrifugadas a 3000 rpm, desprezando-se em seguida o sobrenadante.

O processo foi repetido três vezes. Alíquotas de $500 \mu\text{L}$ foram retiradas e hemolisadas com água destilada na proporção $1:1$ (v/v), com posterior armazenamento a -80 °C para as seguintes análises: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e creatina quinase (CK).

Dosagem de Hemoglobina no Hemolisado

A determinação da concentração de hemoglobina (Hb) no hemolisado torna-se fundamental para a obtenção dos valores finais de CAT.

Os valores foram obtidos através do método de Drabkin (Beutler, 1975), em que a Hb ($100 \mu\text{L}$ da amostra preparada a partir do hemolisado $1:20$, descrito no método da CAT), em presença de reagente de Drabkin (2 mL), forma um composto, a cianometahemoglobina, que é absorvida a 540 nm e cujo coeficiente de extinção milimolar é $11,5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

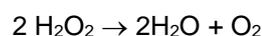
Catalase

A preparação da amostra iniciava-se com a adição de $900 \mu\text{L}$ de tampão fosfato, pH $7,4$, a $100 \mu\text{L}$ do hemolisado ($1:1$), obtendo-se, assim, uma diluição $1:20$ da amostra inicial.

Deste hemolisado, $1 \mu\text{L}$ era adicionado ao meio básico de reação, que continha tampão fosfato 50 mM , pH $7,0$, e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 10 mM .

A medida da atividade da CAT ocorre através da velocidade com que o H_2O_2 é reduzido pela ação da enzima, provocando uma diminuição no valor da absorbância em 240 nm .

A diferença na leitura das absorvências a 240nm , em um intervalo de tempo (15 segundos), permite a determinação da velocidade de redução do H_2O_2 , que é proporcional a velocidade da reação enzimática catalisada pela CAT (Aebi, 1984):



O cálculo da atividade da CAT foi feito pela seguinte equação: $(2,3/\Delta t) \cdot (a/b) \cdot (\log a_1/a_2)$, onde Δt é a variação do tempo de reação (15 s), a é o volume de hemolisado na cubeta, b é a concentração de hemoglobina da amostra em g/dL , a_1 é o valor da absorbância no tempo zero ($t = 0$) e a_2 é o valor da absorbância no tempo final ($t = 15 \text{ s}$). A unidade final expressa-se em k/gHb/min .

Dosagem de Grupamentos Sulfidril Totais no Plasma

Uma alíquota de $50 \mu\text{L}$ do plasma foi misturada em 1 mL de tampão Tris-EDTA (1 mM), sendo feita uma primeira leitura a 412

(leitura A1). Após essa leitura foi adicionado 20 µl de 5,5'- ditiobis ácido 2-nitrobenzóico (DTNB) 10 mM, diluído em metanol. Esperou-se 15 minutos à temperatura ambiente e fez-se nova leitura (leitura A2).

O branco (B) continha somente DTNB e tampão Tris-EDTA. A unidade final foi expressa em µM. Os grupamentos sulfidril totais foram calculados de acordo com o coeficiente de absorção molar = 13,600 cm⁻¹ M⁻¹ (Faure, Lafound, 1995):

$$(A2 - A1 - B) \times 1,57 \text{ mM}$$

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 absorbâncias em 334 nm.

Peroxidação Lipídica (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, 1976).

20 µL de plasma foram diluídos em 4 mL de H₂SO₄ (0,04M). Adicionamos a esta diluição 0,5 mL de ácido fosfotungstíco 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 H₂SO₄ (0,04 mL), seguindo da adição de 0,3 mL de ácido fosfotungstíco 10%. Após centrifugação a 3000 rpm por 10 min, descartamos novamente o sobrenadante e dissolvemos o precipitado em 0,5 mL de H₂O 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.

Análises Estatísticas

Os gráficos foram realizados pelo programa Origin 6.0 e o tratamento estatístico por meio do programa GraphPad InStat® (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

Sistema de Defesa Antioxidante

A Figura 1 mostra que não houve aumento significativo nos níveis de CAT no hemolisado (p>0.05) durante a fase competitiva. Contudo, os valores obtidos podem ser considerados elevados em relação a indivíduos não atletas (Antunes Neto e colaboradores, 2011). Os dados foram: Análise 1 = 0,53 ± 0,08 k/gHb/min; Análise 2 = 0,56 ± 0,09 k/gHb/min; Análise 3 = 0,5 ± 0,07.

Da mesma forma, não houve aumento significativo nos níveis plasmáticos de GST (p>0.05) no mesmo período de análise.

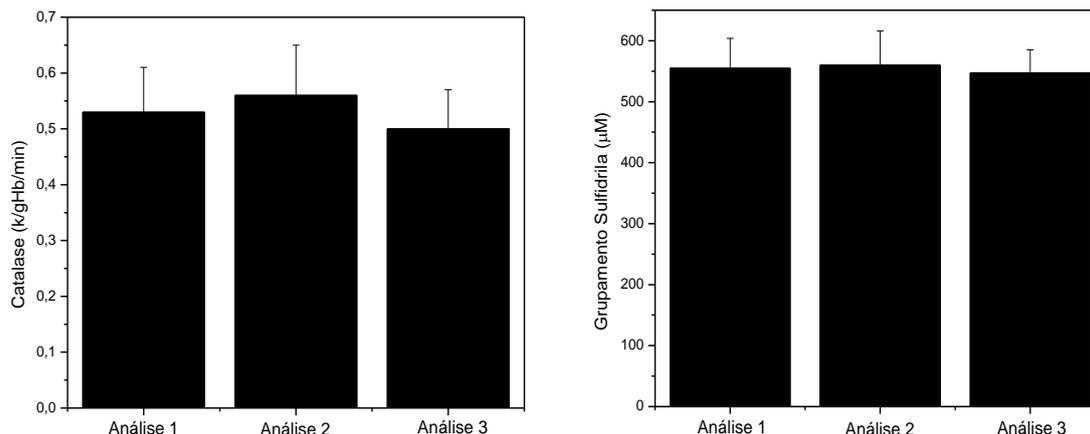
Reforça-se a idéia de que parâmetros enzimáticos (CAT) e não enzimáticos (GST) atuam de forma integrada, pois os valores de GST também são considerados elevados (Yu, 2004). Os dados para GST foram: Análise 1 = 555 ± 49 µM; Análise 2 = 560 ± 56 µM; Análise 3 = 547 ± 38 µM.

Níveis de Alterações Celulares

A Figura 2 mostra que houve aumento significativo nos níveis plasmáticos de CK e TBARS no momento da análise 2 (p<0.01) e

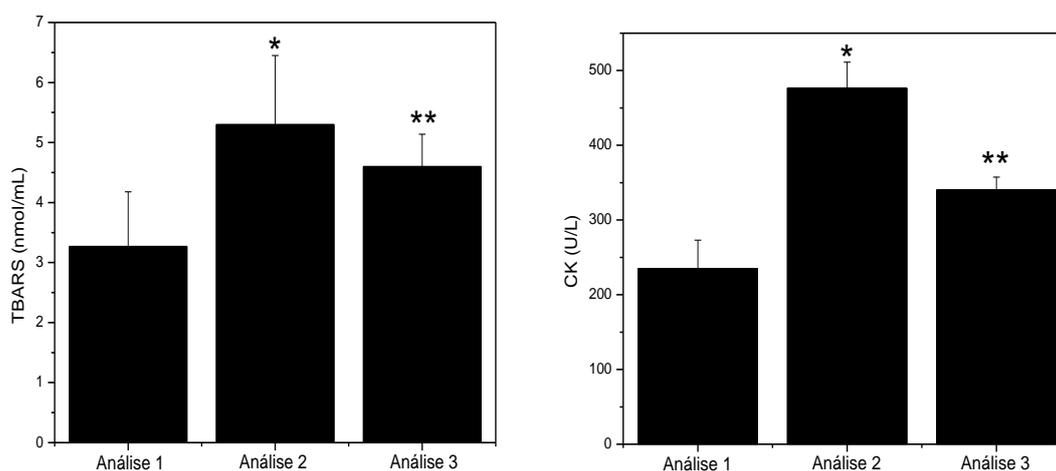
análise 3 ($p < 0.05$) em relação à análise 1. Os valores de média \pm desvio padrão para TBARS foram: Análise 1 = $3,27 \pm 0,91$ nmol/mL; Análise 2 = $5,3 \pm 1,15$ nmol/mL; Análise 3 = $4,6 \pm 0,54$ nmol/mL. Para CK, os valores obtidos foram: Análise 1 = 235 ± 37 U/L; Análise 2 = 476 ± 34 U/L; Análise 3 = 340 ± 17

U/L. O índice de correlação entre os parâmetros de CK e TBARS obtido foi de $c=0.952$, demonstrando condição de que a peroxidação lipídica e microlesões induzidas (níveis de CK) pelos exercícios podem ser avaliadas de forma linear.



Nota: $p > 0.05$.

Figura 1 - Níveis da enzima catalase (CAT) e de grupamentos sulfidríla totais (GST) no eritrócito (média \pm desvio-padrão) em tenistas de campo durante mesociclo competitivo ($n = 5$).



Nota: * = $p < 0.01$ em relação à análise 1; ** = $p < 0.05$ em relação a análise 1 e análise 2.

Figura 2 - Níveis plasmáticos peroxidação lipídica (TBARS) e da enzima creatina quinase (CK) em tenistas de campo durante mesociclo competitivo ($n = 5$)

DISCUSSÃO

Medidas para predição da condição física do atleta sempre foram executadas de acordo com os princípios da modalidade. Os testes mais comuns e propagados são aqueles realizados no próprio ambiente de treinamento do esportista, onde o enfoque principal reside no princípio da especialidade do treinamento (Verkhoshanski, 2000).

Tal condição relaciona-se diretamente ao princípio da adaptação e sistematização do treinamento desportivo, pois a manutenção do planejamento – ou de sua reorganização - é a garantia de obtenção das respostas adaptativas (Fry, 1988).

Com o desenvolvimento das Ciências do Esporte e de metodologias 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.

O objetivo deste trabalho foi compreender como atletas jovens, porém já praticantes há muitos anos da modalidade tênis, correspondiam a variações nos níveis de estresse oxidativo, dados de extrema importância para as avaliações do estado redox da célula muscular.

O trabalho foi possível uma vez que houve grande interesse da parte da equipe técnica e de preparação física em interar-se sobre este trabalho e, sobretudo, em conhecer os respaldos teóricos literários.

A CAT é uma enzima que atua na detoxificação de EROs, mais especificamente no controle dos níveis de H_2O_2 intracelular (Chance e colaboradores, 1979).

Apesar do H_2O_2 não ser uma espécie radicalar, nem ter alto potencial oxidante, o mesmo pode reagir com metais de transição, principalmente o ferro, ligado ou não a grupamentos heme localizados dentro das células, dando origem ao radical hidroxila (OH^\cdot), um poderoso oxidante (Yu, 2004).

Portanto, a manutenção de baixos níveis dessa substância é de fundamental importância para que nenhuma estrutura

subcelular sofra ataque oxidativo intenso e mantenha suas devidas funções. O H_2O_2 é desidratado enzimaticamente a H_2O e O_2 pela CAT.

Outro interessante marcador de defesa antioxidante são os níveis de GST no plasma. A maioria das proteínas plasmáticas possui resíduos de cisteína (com grupamentos sulfidríla livres), que podem ser oxidados pela ação de EROs.

A quantificação da concentração plasmática de GST fornece uma ideia de ataque oxidativo a proteínas e, conseqüentemente, do nível de defesa antioxidante (Halliwell e Gutteridge, 1989).

A literatura carece de dados relativos ao tênis e estresse oxidativo.

A Figura 1 mostra que os níveis de atividade de CAT continuam elevados, mesmo durante a situação intensa entre treinamento e competição. Primeiramente, deve-se levar em conta os ciclos anteriores de treinamento, os quais possibilitaram que os atletas chegassem ao período de competição em condições adequadas para suportarem as exigências estressoras. O consenso é que o treinamento aeróbio aumenta a capacidade das enzimas antioxidantes no eritrócito (Selamoglu e colaboradores, 2000).

Os eritrócitos, pelo fato de serem células anucleadas, não possuem capacidade de síntese proteica. A regulação ou a manutenção de atividade elevada das enzimas contidas nesta célula, em curto prazo, tal como na situação do mesociclo competitivo deste estudo, sugere que em requerimento funcional agudo os estímulos estressores realizem interações diretas com a própria estrutura proteica da enzima (regulação alostérica) (Tauler e colaboradores, 1999).

Kosenko e colaboradores (1997) evidenciaram que o próprio H_2O_2 poderia possuir efeito estimulatório na enzima superóxido dismutase (também vista no eritrócito), enquanto que o radical ânion superóxido (O_2^\cdot) atuaria sobre a CAT. Outra hipótese para o aumento da atividade da CAT estaria na redução de Fe^{3+} para Fe^{2+} presente no grupamento heme de sua molécula (Hawkins e colaboradores, 1993), o que a deixaria mais ativa quando reduzida. Uma possibilidade seria o Km da CAT para os peróxidos, o que, assim, justificaria o seu valor elevado de atividade nesta fase intensa de competição (Figura 1), período em que a

produção de EROs estaria mais alta (vide os resultados de peroxidação lipídica) e a capacidade de detoxificação intracelular saturada (mas não diminuída).

Quanto à concentração aumentada de GST no plasma, parece haver relação com a manutenção elevada da atividade da CAT, indicando que os danos oxidativos não foram relevantes para oxidação significativa de grupamentos SH livres no plasma.

Olinescu e colaboradores (1995) detectaram aumento na oxidação de grupamentos -SH plasmáticos em decorrência do estresse oxidativo induzido pelo treinamento físico. Contudo, o aumento de atividade de CAT em conjunto com os índices de GST observados parece sobressair-se aos níveis de estresse oxidativo alcançados durante o período competitivo.

A Figura 2 apresenta correlação importante entre valores de TBARS e CK. Índices de peroxidação lipídica, como a alta concentração de malondialdeído (MDA), proporcionam investigações para avaliação dos dados induzidos pelas EROs em sítios com farta presença de fosfolípidos, tais como nas membranas biológicas (Alessio e Goldfarb, 1988; Cruzat e colaboradores, 2007; Davies e colaboradores, 1982; De Zwart e colaboradores, 1999; Janero, 1990).

A alta concentração plasmática de MDA relaciona-se também com o estado de treinamento (Alessio e Goldfarb, 1988).

Os atletas do nosso estudo formam um grupo homogêneo, com anos de preparação geral e de base para que chegassem ao estágio específico de indução de sobrecarga da modalidade. Este fato sugere que alterações moleculares induzidas pelas próprias EROs são desencadeadas para promoverem capacitância de adaptações duradouras e permitirem uma “janela” adaptativa para aprimoramento do rendimento atlético (Antunes Neto e Paula, 2011).

Elevação nos níveis plasmáticos de CK indica alterações da membrana célula, possivelmente devido a reações de hipóxia/reperfusão ou isquemia resultantes do exercício exaustivo (Antunes Neto e colaboradores, 2006).

Os tenistas estão envolvidos em atividades, principalmente no período competitivo, onde há aplicação extenuante de cargas intermitentes, com períodos limitados de recuperação ativa. Todas essas condições

permitem a instalação de quadros de isquemia/reperfusão, promovendo extravasamento mais acentuado de CK no plasma. O exercício excêntrico exaustivo, comum nas ações de frenagens e mudanças de direção durante uma partida de tênis, poderia desestabilizar as estruturas do sarcômero e elevar a $[Ca^{2+}]$ intracelular, ativando proteases dependentes de cálcio em membranas biológicas (Cruzat e colaboradores, 2007).

CONCLUSÃO

Os dados mostram correlação direta entre o perfil de modulação das concentrações plasmáticas de CK e TBARS. Os níveis elevados destes parâmetros de alterações celulares, sobretudo na Análise 2 sugerem a instalação de estresse oxidativo.

Por outro lado, através de uma análise integradora, a ação dos marcadores antioxidantes, CAT e GST, ao longo das três dosagens realizadas, prediz uma situação adaptativa favorável às condições intensas travadas entre sobrecarga e período recuperativo durante o mesociclo competitivo.

A compreensão das dinâmicas de variações dos marcadores estudados traz a possibilidade de delinear, com a continuidade de estudos para a modalidade do tênis voltados a atletas em formação, orientações mais sólidas sobre a estruturação dos ciclos plurianuais de periodização.

REFERÊNCIAS

- 1-Aebi, H. Catalase. In: Packer L, (ed). *Methods in enzymology*. Florida: Academic Press, 1984.
- 2-Alessio, H. M.; Goldfarb, A. H. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptative response to training. *J Appl Physiol*. Vol. 64. p.1333-1336. 1988.
- 3-Antunes Neto, J. M. F.; Ferreira, D. C. B. G.; Reis, I. C.; Calvi, R. G.; Rivera, R. J. B. Manutenção de microlesões celulares e respostas adaptativas a longo prazo no treinamento de força. *Brazilian Journal of Biomotricity*. Vol. 1. p.87-102. 2007.

- 4-Antunes Neto, J. M. F.; Paula, L. B. Índices de estresse oxidativo em sujeitos com diferentes níveis de composição corporal e aderência a prática de atividade física. *Brazilian Journal of Biomotricity*. Vol. 5. p.117-131. 2011.
- 5-Antunes Neto, J. M. F.; Pereira-da-Silva, L.; Macedo, D. V. Biomarcadores de estresse oxidativo: novas possibilidades de monitoramento em treinamento físico. *R Bras Ci e Mov*. Vol. 12. p.73-80. 2005.
- 6-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 (HSP70) and oxidative stress markers in rats after a bout of exhaustive exercise. *Stress*. Vol. 9. p.107-115. 2006.
- 7-Beutler, E. Red cell metabolism. In: *A manual of biochemical methods*. London: Grune & Stratton Publishers, 1975.
- 8-Chance, B.; Sies, H.; Boveris, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*. Vol. 59. p.527-605. 1979.
- 9-Cruzat, V. F.; Rogero, M. M.; Borges, M. C.; Tirapegui, J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Rev Bras Med Esporte*. Vol. 13. p.336-342. 2007.
- 10-Davies, K. J. A.; Quintanilha, A. T.; Brook, G. A.; Packer, L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun*. Vol. 107. p.1198-1205. 1982.
- 11-De Zwart, L. L.; Meerman, J. H. N.; Commandeur, J. N. M. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Rad Biol Med*. Vol. 26. p.202-226. 1999.
- 12-Faure, P.; Lafond, J. L. Measurement of plasma sulphhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. In: Favier, A.E. et al. (Eds.). *Analysis of free radicals in biological systems*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1995. p.237-48.
- 13-Fridén, J.; Lieber, R. L. Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Med Sci Sports Exerc*. Vol. 24. p.521-530. 1992.
- 14-Fry, A. C. The role of training intensity in resistance exercise-overtraining and overreaching. In: *Overtraining in Sport*. Kreider, R. B.; e colaboradores (editors). Champaign, IL: Human Kinetics, p.107-130, 1998.
- 15-Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd ed. Oxford: Clarendon, 1989.
- 16-Hawkins, P. T.; Poyner, D. R.; Jackson, T. R.; Letcher, A. J.; Lander, D. A.; Irvine, R. F. Inhibition of iron-catalysed hydroxyl radical formation by inositol polyphosphates: a possible physiological function for myo-inositol hexakisphosphate. *Biochem J*. Vol. 294. p.929-934. 1993.
- 17-Janero, D. R. Malondialdeyde and thiobarbituric acid reactive as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue. *Free Rad Biol Med*. Vol. 4. p.515-540. 1990.
- 18-Kosenko, E. A.; Kaminsky, Y. G.; Stavrovskaya, I. G.; Sirota, T. V.; Kondrashova, M. N. The stimulatory effect of negative air ions and hydrogen peroxide on the activity of superoxide dismutase. *FEBS Letters*. Vol. 410. p.309-312. 1997.
- 19-Lieber, R. L.; Thornell, L. E.; Fridén, J. Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction. *J Appl Physiol*. Vol. 80. p.278-284. 1996.
- 20-Olinescu, R.; Talaban, D.; Nita, S.; Mihaescu, G. Comparative study of the presence of oxidative stress in sportsmen in competition and aged people, as well as the preventive effect of selenium administration. *Rom J Intern Med*. Vol. 33. p.47-54. 1995.
- 21-Power, S. K.; Criswell, D.; Lawler, J.; Ji, L. L.; Martim, D.; Herb. R. A.; e colaboradores. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*. Vol. 266. p.R375-R380. 1994.

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 / www.rbpfex.com.br

22-Schneider, C. D. E.; Oliveira, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. Rev Bras Med Esporte. Vol. 10. p.190-197. 2004.

Recebido para publicação 17/02/2013
Aceito em 15/07/2013

23-Selamoglu, S.; Turgay, F.; Kayatekin, B. M.; Gonenc, S.; Yslengen, C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. Acta Physiol Hung. Vol. 87. p.267-273. 2000.

24-Tauler, P.; Gimeno, I.; Aguiló, A.; Guix, M. P.; Pons, A. Regulation of erythrocyte antioxidant enzyme activities in athletes during competition and short-term recovery. Pflügers Arch. Vol. 438. p.782-787. 1999.

25-Verkhoshanski, Y. V. Treinamento desportivo: teoria e metodologia. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

26-Yagi, K. A. A simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma. Biochem Med. Vol. 14. p.212-216. 1976.

27-Yu, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev. Vol. 74. p.139-162. 2004.

1-Instituto de Ensino Superior de Itapira – IESI. Graduação em Enfermagem e Fisioterapia. Núcleo de Estudos Multidisciplinares em Saúde (NEMES – IESI).

2-Instituto de Ensino São Francisco – IESF (Mogi Guaçu). Graduação em Enfermagem e Nutrição.

3-Programa de Pós-Graduação Lato Sensu da Universidade Gama Filho.

E-mail:

joaquim_netho@yahoo.com.br

bergonader@hotmail.com

caio88@gmail.com

danielasandy@yahoo.com.br

enf.elaine.ribeiro@gmail.com

Endereço para correspondência:

Joaquim Maria Ferreira Antunes Neto

Instituto de Ensino Superior de Itapira

Avenida Rio Branco, 99, Centro, Itapira – SP

CEP: 13970-070