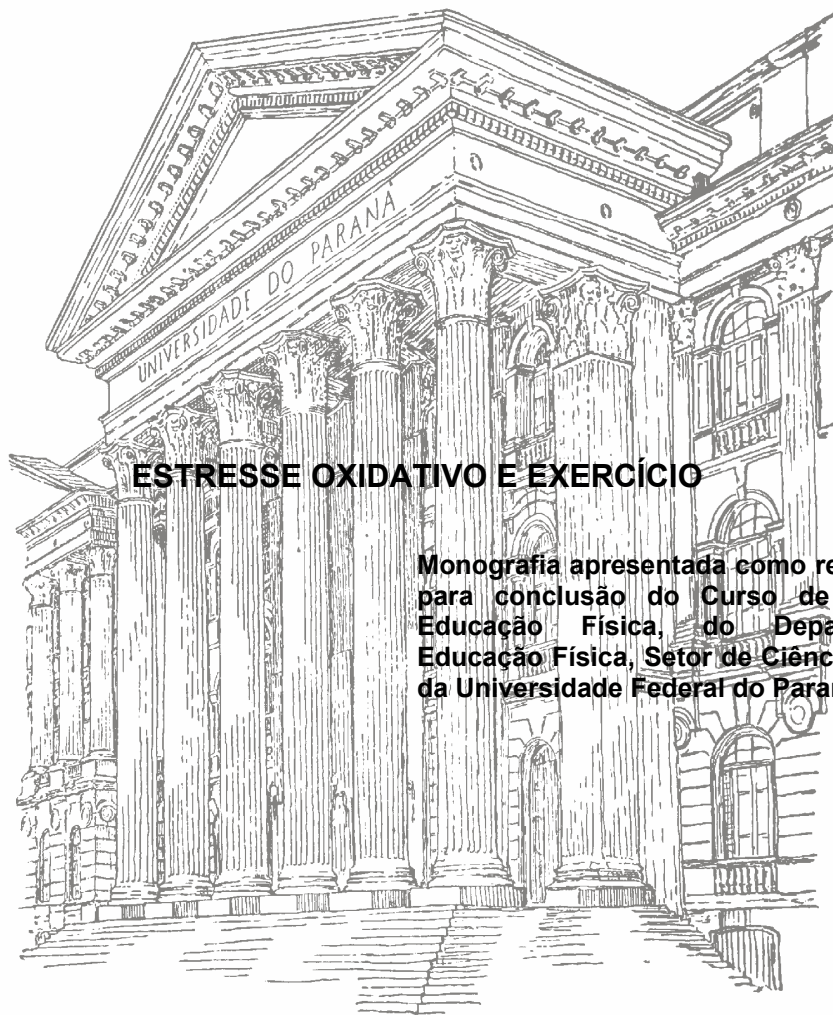


**DÉBORA LIMBERGER**



**ESTRESSE OXIDATIVO E EXERCÍCIO**

Monografia apresentada como requisito parcial para conclusão do Curso de Bacharel em Educação Física, do Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

**CURITIBA**

**2006**

**DÉBORA LIMBERGER**

**ESTRESSE OXIDATIVO E EXERCÍCIO**

**Monografia apresentada como requisito parcial para conclusão do Curso de Bacharel em Educação Física, do Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.**

**ORIENTADORA: DR.<sup>a</sup> MARIA GISELE SANTOS**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	iii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 Apresentação do problema .....	1
1.2 Justificativa.....	2
1.3 Objetivos .....	2
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	31
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	32
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34

## RESUMO

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a formação de radicais livres e o sistema de defesa antioxidante, com predominância no primeiro. Essa predominância de radicais livres no organismo pode causar danos teciduais, mutagênese devido a reação com ácidos nucléicos, inflamação e fadiga muscular. Além disso, os danos teciduais, ocasionados pelas ações dos radicais livres, estão relacionados com a etiogênese de um grande número de doenças e com o processo do envelhecimento. A produção de radicais livres no organismo pode ser induzida por vários fatores, e o exercício é um deles. Durante a atividade muscular a demanda energética é aumentada e para suprir essas necessidades energéticas, o volume de oxigênio fornecido é maior, e com isso, maiores também são as chances de se processarem reduções monoelétrônicas do  $O_2$ , gerando os radicais livres. Porém, o exercício pode também induzir aumento na atividade das enzimas antioxidantes, as quais, tem como principal função inibir ou reduzir os danos causados às células pelos radicais livres, evitando o estresse oxidativo. Os estudos atuais referentes ao mecanismo de defesa antioxidante e ao estresse oxidativo relacionados ao exercício são conflitantes. Há pesquisas indicando que o exercício leva a um estresse oxidativo e por outro lado, há outras que apontam que o sistema de defesa antioxidante responde ao exercício, aumentando a atividade das enzimas e evitando esse estresse. Diante dessas divergências, esse estudo tem por objetivo pesquisar os mecanismos de formação dos radicais livres e de atuação dos antioxidantes durante o exercício, para assim, identificar se o exercício promove o estresse oxidativo e em qual tipo e intensidade isso pode ocorrer. É de extrema importância que as pessoas envolvidas no treinamento, como treinadores e atletas, assim como, praticantes de exercício, conheçam esses mecanismos, pois, assim, terão possibilidade de combater o estresse oxidativo e os danos ao desempenho esportivo e ao organismo que ele pode causar.

Palavras-chave: radicais livres, antioxidantes, estresse oxidativo e exercício físico.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA

A capacidade de utilização de oxigênio no processo de produção de energia intracelular foi um dos principais avanços dos seres vivos. O aumento no consumo de oxigênio e na quantidade de energia produzida permitiu que os organismos evoluíssem. Entretanto, com o aumento do consumo de oxigênio, aumentou também a formação de radicais livres de oxigênio. Parte do oxigênio que respiramos, em torno de 2 a 5%, são reduzidos univalentemente em metabólicos denominados espécies reativas de oxigênio. Esses metabólicos, que, muitas vezes, são de extrema utilidade ao organismo, podem também causar danos a este, pois estão relacionados a um grande número de doenças, como enfisema pulmonar, doenças inflamatórias, aterosclerose, câncer e envelhecimento (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000).

Dentre muitos fatores, o exercício também pode contribuir para a formação de radicais livres de oxigênio. Isso devido ao aumento do consumo de oxigênio e da ativação de vias metabólicas durante ou após a atividade. Quando há um desequilíbrio entre a formação de radicais livres e o sistema de defesa antioxidante, com predominância no primeiro, instaura-se um processo denominado estresse oxidativo e isso pode resultar na produção de compostos tóxicos ou em danos teciduais (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995)

Desde 1982, quando Davies e colaboradores demonstraram o dano oxidativo ocasionado pelo exercício e sugeriram que esse poderia ser a causa da fadiga e /ou dano muscular que acontecem após um exercício exaustivo, tem sido acumulado um grande número de evidências experimentais que apontam que o exercício intenso pode levar a um estresse oxidativo (ESSIG, 1997). Nies *et al.* (1996), demonstraram em seus estudos a presença de dano ao DNA nos leucócitos circulantes após exercício intenso em esteira. Nesta linha de trabalho, Palazzetti *et al.* (2003), ao submeter atletas em condições de sobrecarga de treinamento, verificou maiores índices de lipoperoxidação, processo gradativo que leva a alterações estruturais e funcionais das membranas celulares e intracelulares.

Por outro lado, há estudos indicando que embora o exercício físico contribua para o aumento na produção de radicais livres, os sistemas de defesas antioxidantes

possuem a capacidade de adaptarem-se em resposta a uma maior produção desses radicais. Powers *et al.* (1999) detalham o aumento induzido na atividade de todas as enzimas antioxidantes em resposta ao treinamento físico e afirmam que o treinamento de alta intensidade que é necessário para o nível de competição de elite é capaz de aumentar as defesas antioxidantes. Subudhi apud Scheneider e Oliveira (2004), verificou que não houve mudanças nos marcadores de estresse oxidativo, após avaliar esquiadores alpinos de elite que foram submetidos a treinamento intenso, supondo, então, que estes tiveram uma adaptação positiva em seus mecanismos antioxidantes com o treinamento.

Contudo, os estudos atuais referentes ao mecanismo de defesa antioxidante e ao estresse oxidativo relacionados ao treinamento físico são bastante conflitantes. Há pesquisas indicando que o exercício intenso leva a um estresse oxidativo e que isso pode causar um dano ao organismo e ao desempenho. Por outro lado, há pesquisas que apontam que o sistema de defesa antioxidante responde ao treinamento, aumentando a atividade das enzimas e evitando o estresse oxidativo.

Diante de tantas divergências, algumas questões são pertinentes:

O exercício físico realmente pode induzir um estresse oxidativo? E em qual tipo e intensidade de exercício isso pode ocorrer?

## 1.2 JUSTIFICATIVA

Este trabalho será desenvolvido para trazer informações mais conclusivas e atuais sobre o processo de instauração do estresse oxidativo no organismo durante o exercício, bem como, informações sobre a atuação dos antioxidantes e a formação dos radicais livres.

É de extrema importância que as pessoas envolvidas no treinamento, como treinadores, atletas e praticantes, compreendam a atuação dos antioxidantes e os mecanismos de formação dos radicais livres durante o exercício, pois, só assim, terão possibilidade de combater o estresse oxidativo e os danos ao desempenho esportivo e ao organismo que ele pode causar.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 Objetivo geral

Pesquisar os mecanismos de formação dos radicais livres e de atuação dos antioxidantes durante o exercício físico, para assim, identificar se o exercício físico promove o estresse oxidativo.

### 1.3.2 Objetivos específicos

1.3.2.1 Identificar os mecanismos de formação dos radicais livres.

1.3.2.2 Levantar os danos causados pelos radicais livres.

1.3.2.3 Destacar os mecanismos de atuação do sistema antioxidante e sua adaptação em resposta ao exercício.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 RADICAIS LIVRES

Os radicais livres são átomos ou moléculas produzidas continuamente no organismo durante os processos metabólicos, são formados naturalmente ou por alguma disfunção biológica. Podem desempenhar funções importantes, encontrando-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas. Por outro lado, a produção excessiva desses radicais pode conduzir a diversas formas de danos celulares e sua cronicidade pode estar envolvida com a etiogênese ou com o desenvolvimento de várias doenças (BARREIROS *et al.*, 2006; SHAMI & MOREIRA, 2004).

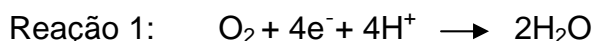
Moléculas orgânicas, inorgânicas e os átomos que contém um ou mais elétrons não pareados nos orbitais externos, com existência independente, são classificados como radicais livres. De acordo com Olszewer (1995), para uma molécula permanecer estável precisa da presença de elétrons pareados na sua órbita externa, e quando, por fenômenos de oxirredução, a molécula perde ou ganha elétrons, tem-se a formação do radical livre. O não-emparelhamento de elétrons da última camada determina uma atração para um campo magnético, tornando esses átomos ou moléculas altamente reativos, instáveis e com meia-vida curtíssima. Os radicais livres tendem a ligar o elétron não pareado com outros presentes em estruturas próximas de sua formação, comportando-se como receptores (oxidantes) ou como doadores (redutores) de elétrons (KOURY & DONANGELO, 2003). São capazes de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa na tentativa constante de parear-se. Este fenômeno determina a formação de radicais livres em cascata, processo que só termina quando dois radicais livres se encontram onde um ganha e outro perde o elétron da órbita externa, deixando de ser um Radical Livre (OLSZEWER, 1995).

Os radicais são apêndices ligados a um núcleo fundamental qualquer, conferindo a este características diferenciadas. Em moléculas orgânicas, os radicais interferem na complexidade destas, atribuindo-lhes propriedades químicas e físicas bem distintas, conforme a natureza do substituinte apenso ao seu núcleo (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

A maioria dos radicais livres é originada a partir do metabolismo do oxigênio, por isso, o oxigênio é considerado uma das mais importantes fontes geradoras desses radicais. O termo Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) é utilizado para incluir os radicais livres e, também, produtos intermediários do metabolismo do oxigênio que não são radicais, mas, são capazes de gerar radicais livres (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000). As principais espécies reativas de oxigênio são o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e o radical hidroxil ( $OH^{\bullet}$ ), que são radicais livres, e os metabólitos de oxigênio (não radicais), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio singlet ( $^1 O_2$ ) (CÓRDOVA & NAVAS, 2000; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000; OLSZEWER, 1995; BARREIROS *et al*, 2006). Existem muitas espécies de radicais, porém, nesta revisão será delimitado somente o estudo das ERO.

### 2.1.2 Mecanismos de formação dos radicais livres

De acordo com Halliwell e Gutteridge (2000), quase todo oxigênio que respiramos é metabolizado em nosso organismo, sendo 85 a 90% utilizado pela mitocôndria através da cadeia de transporte de elétrons; os 10 a 15% restantes são utilizados por diversas enzimas oxidases e oxigenases e também por reações químicas de oxidação diretas. O oxigênio molecular, na cadeia respiratória, deve sofrer uma redução tetraeletrônica (estável). A redução ocorre na parte terminal da cadeia de transporte de elétrons, sendo a reação catalisada pela enzima citocromo-oxidase que remove um elétron de cada uma das quatro moléculas reduzidas de citocromo c, oxidando-as, e adiciona os quatro elétrons ao oxigênio para formar água (em torno de 95 a 98% dos 85 a 90% citados acima) (Reação 1). No entanto, uma parcela de oxigênio tem tendência a sofrer redução monoeletrônica, com isso, os 2 a 5% restantes são reduzidos univalentemente em metabólicos denominados espécies reativas de oxigênio (ERO) (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000; SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).



De acordo com Shami e Moreira (2004), a formação dos radicais livres pode ocorrer no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e moléculas de DNA) está relacionado com seu sítio de formação. Dois sistemas enzimáticos participam da geração dos radicais: o sistema oxidativo de  $NADP^+ / NADP^+H^+$  e o da mieloperoxidase. O substrato básico

na geração dos radicais livres na célula é a via aeróbica enzimática da mitocôndria, que está envolvida na redução do oxigênio molecular. Mas, além disso, a produção de radicais livres pode ser muito estimulada por interferência de condições ambientais. Tais condições são representadas por estímulos exógenos e endógenos (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

As fontes exógenas geradoras de radicais livres incluem tabaco, poluição, medicamentos, solventes orgânicos, pesticidas, radiações ionizantes, (raios gama e raios x) e não ionizantes (bandas do UV); como também, uma maior ingestão de ferro, cobre e ácidos graxos poliinsaturados (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995; SOARES, 2002). As fontes endógenas, originam-se de processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo, tais como redução de flavinas e tióis, resultado da atividade de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases, desigrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons (SOARES, 2002).

Fisiologicamente, a produção dos radicais livres pode ser estimulada pelas seguintes fontes e situações:

- Durante a respiração, na mitocôndria celular, o oxigênio é transformado em água ao nível das mitocôndrias, por um processo de oxirredução, no qual, os elétrons são deslocados aos pares. Mas, uma pequena parte desta reação ocorre com deslocamento de um só elétron, gerando as ERO. O transporte de elétrons associado às membranas mitocondriais é a maior via de formação de radicais livres de oxigênio (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995)

- Durante os processos de isquemia seguidos de reoxigenação intensa. Condição esta, denominada de síndrome de isquemia-reperfusão. Neste caso, as causas do processo lesivo não ocorrem devido ao estado de hipóxia, mas sim, quando o oxigênio volta a ser suprido, formando-se então, espécies reativas de oxigênio. A lesão isquêmica tissular provém de uma seqüência de eventos que têm seu início marcado pela instalação da baixa perfusão sanguínea no tecido e conseqüente decréscimo na oferta de oxigênio. Esse processo conduz a uma depleção do ATP, cuja síntese dá-se na cadeia respiratória mitocondrial. Como conseqüência da depleção do ATP, há liberação dos íons cálcio a partir do retículo endoplasmático e efluxo mitocondrial, redistribuindo esse íons no citossol. Essa concentração citossólica alta de cálcio promove a ativação de uma protease (a

calpaína) que, enzimaticamente, converte outra enzima do citoplasma, a xantina-desidrogenase em xantina-oxidase. A xantina-oxidase, originalmente sintetizada na forma da xantina-desidrogenase, se apresenta em abundância no coração, cérebro, intestino, pulmão e fígado e, estando na forma de desidrogenase, não é apta a reduzir o oxigênio. No entanto, quando ocorre a conversão de desidrogenase para oxigenase, fato que acontece durante o evento isquêmico, se torna capaz de valer-se do oxigênio para realizar a redução e produzir radicais livres. Após a isquemia, quando ocorre a reoxigenação intensa, a xantina-oxidase atua sobre o seu substrato, a hipoxantina, para transformá-la em xantina. E, devido à formação de uma grande concentração de xantina-oxidase e com a oferta abrupta de oxigênio, forma-se em excesso, o radical superóxido (OLSZEWER, 1995; SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

- Os radicais livres podem ser produzidos durante a síntese de prostaglandinas. Estas originam-se do ácido araquidônico no metabolismo dos fosfolípidos com a participação da enzima fosfolipase (OLSZEWER, 1995).

- São produzidos durante o processo de fagocitose. Na resposta imunológica a um processo infeccioso, há mobilização dos agentes efetadores de reações mediadas por células, dentre as quais se destacam o neutrófilo, os macrófagos e a célula K (Killer cell). Durante a atividade fagocitária são englobados, vírus, bactérias ou substância estranhas aos tecidos. Neste processo, os leucócitos formam uma invaginação em sua membrana, isolando o germe capturado. No interior desta bolsa há uma grande produção de radicais livres para destruir o invasor. A primeira espécie de radical a ser formada é o ânion superóxido pela ação da enzima NADPH-oxidase e, a partir do superóxido, outras ERO são formadas. Em presença de íons ferro, o radical superóxido transforma-se no radical hidroxil, mas, também, pode ser dismutado pela enzima Sod, gerando peróxido de hidrogênio, que, por sua vez, pode reagir com íons  $Cl^-$ , numa reação catalisada pela mieloperoxidase (MPO), gerando ácido hipocloroso (HClO). O HClO é altamente reativo e, juntamente com outras ERO geradas, atua como defesa bactericida nas células. (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000; OLSZEWER, 1995; SALVADOR & HENRIQUES, 2004, SIGNORINI & SIGNORINI, 1995). Na célula fagocitária, inúmeras vias enzimáticas estão implicadas na produção de radicais livres de oxigênio, e essas vias, no conjunto, compõem o chamado arsenal do fagócito. Em situações de combate a um

agente patógeno, quando essas vias são mobilizadas intensamente, ocorre uma aceleração do consumo de oxigênio. Este fenômeno é denominado de “explosão respiratória”.

De acordo com Signorini e Signorini (1995), os mecanismos enzimáticos que compõem o arsenal do fagócito são:

- 1- via da NADPH-oxidase: formação do radical superóxido
- 2- via da fosfolipase  $A_2$ : ativação primária da formação dos eicosanóides (prostaglandinas, tromboxano, leucotrienos) e , hidroperóxidos
- 3- via da mieloperoxidase: formação do hipoclorito e, em seqüência, espécies radicais oriundas destes
- 4- via das hidrolases: liberação de diversas enzimas líticas lisossomiais (proteases, lipases, glicosidases etc.)

- Outra fonte de formação dos radicais livres são as radiações ionizantes, como a luz ultravioleta, e também a luz visível (SOARES, 2002). De acordo com Salvador e Henriques (2004), essa fonte origina principalmente o oxigênio singlet e o radical hidroxil. As partes mais expostas a essas radiações como a pele e os olhos são o substrato principal na formação destes radicais livres. A formação dos radicais livres ao nível da membrana celular ocorre devido a uma interligação entre o oxigênio e seus subprodutos de radicais livres com a dupla cadeia de ácidos graxos poliinsaturados que formam a membrana celular junto com uma camada de proteína. A membrana perde suas características arquitetônicas, tornando-se menos firme e menos flexível, através de uma seqüência de reações em cadeia. A reação em cadeia é resultado da auto-oxidação. Cada radical, livre após ter alterado profundamente uma cadeia lipídica, ataca a cadeia vizinha sem perder seu poder destruidor. Segundo Olszewer (1995), esse fenômeno se realiza em três seqüências. São elas:

Início – um radical livre é formado e passa pelo sistema de segurança formado pelas enzimas antioxidantes.

Propagação – este radical livre ataca a primeira cadeia de dupla ligação que encontrar na membrana celular ao nível dos ácidos graxos. Em seguida, começa a atacar a cadeia do fosfolípídeo vizinho, condicionando uma reação em cadeia, continuando assim por diante em um número indeterminado. Essa reação em cadeia resulta em uma grande alteração da estrutura da membrana.

Término – o radical livre formado encontra outro radical livre no seu caminho, ou qualquer outro tipo de molécula que possua capacidade de atraí-lo, e principalmente de prendê-lo, fazendo-o perder sua capacidade de agir como radical livre, pareando seus elétrons na órbita externa.

- A fumaça do cigarro também origina muitas espécies de radicais livres. Isso pode acontecer de forma indireta, por ativação de vias bioquímicas celulares formadoras de ERO, como direta, onde a própria fumaça contém espécies de radicais livres geradas no processo de combustão do fumo. A fumaça do cigarro é formada por aproximadamente 4000 compostos e cada tragada produz aproximadamente  $10^{14}$  ERO (SALVADOR & HENRIQUES, 2004). Nessa fumaça foram detectados o radical superóxido, o hidroxil, o peróxido de hidrogênio, o oxigênio singlet, e, entre outras substâncias como metais pesados e elementos radioativos. De forma indireta, o fumo pode induzir a geração dos radicais livres por aumentar a concentração de metais de transição que participam das reações de produção das EROs e também, por promover a ativação leucocitária, especialmente em nível pulmonar (SALVADOR & HENRIQUES, 2004; SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

- Os radicais livres podem ser originados pelo uso de fármacos como antibióticos antineoplásicos e drogas antimaláricas, como também, pelo contato com herbicidas. Essas substâncias atuam formando complexos com os ácidos nucléicos e íons de ferro. Quando entram em contato com o oxigênio, esses complexos reduzem-no, pois, são altamente redutores. Ao reduzirem um substrato, são oxidados e estariam inativados se não fossem novamente reduzidos por um redutor, tal como NADPH ou o próprio ânion superóxido. Quando isso acontece, eles perpetuam um ciclo redox, isto é, a alternância de reações de redução e oxidação, dando origem de forma contínua a ERO. Por este motivo, essas substâncias são denominadas cicladoras de redox (SALVADOR & HENRIQUES, 2004; SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

- Outra fonte de radicais livres é o Citocromo P-450, localizado no retículo endoplasmático. Esse sistema de citocromos possui as condições apropriadas para a formação de radicais livres: íons de metais de transição, oxigênio e reações de transferência de elétrons. O citocromo P-450 é responsável pela detoxificação de drogas, tais como o benzeno, álcool, inseticidas clorados, paraquat, antimaláricos,

antitumorais e antifúngicos. Alguns desses compostos que sofrem detoxificação por reações catalisadas pelo citocromo P-450 convertem-se em intermediários reativos que provocam danos à membrana microsomal a partir da peroxidação lipídica (PERES, 1995).

- Outro sítio de formação de radicais livres são os peroxissomos. Eles são ricos em enzimas que geram peróxido de hidrogênio e caso essa ERO gerada não seja dismutada pelo sistema peroxissomal, haverá dano celular (ROBBINS, 1996).

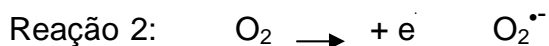
### 2.1.3 Espécies reativas de oxigênio e suas características

As mais importantes espécies reativas de oxigênio são os radicais superóxido e hidroxila. O peróxido de hidrogênio não é um radical livre, mas, representa um metabólico de oxigênio parcialmente reduzido e participa de reações que originam radicais livres. Outras espécies reativas de interesse são os oxigênio singletes, que são formas de oxigênio spin-alteradas (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004).

Mecanismos de formação das principais ERO:

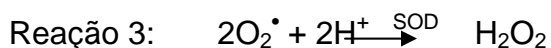
- Radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ )

O radical superóxido é gerado através da cadeia de transporte de elétrons, sendo formado a partir da adição de um elétron a uma molécula de oxigênio no estado fundamental (reação 2) (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). É produzido durante a ativação máxima de neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos e, também, pode ser gerado por reações de autooxidação e reações enzimáticas em diversas organelas celulares. Entre as substâncias de interesse biológico que se autoxidam, gerando o radical superóxido, incluem-se a hemoglobina, a mioglobina e catecolaminas. As enzimas NADPH-oxidase e xantina oxidase, entre outras, geram os radicais superóxidos. A presença da enzima NADPH nas membranas das células fagocíticas e sua ativação faz com que sejam produzidas grandes quantidades de radical superóxido durante a fagocitose (OGA, 2003). O superóxido é um oxidante fraco, mas age como precursor para gerar radicais livres provenientes do metabolismo com propriedades citotóxicas mais acentuadas (OLSZEWER, 1995).



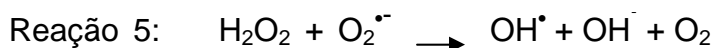
- Peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ )

O peróxido de hidrogênio não é um radical livre, entretanto, representa um metabólito de oxigênio parcialmente reduzido. É formado na matriz mitocondrial pela redução de dois elétrons de oxigênio molecular ou pelo processo denominado de dismutação, no qual, o superóxido, ao receber mais um elétron e dois íons hidrogênio, forma peróxido de hidrogênio (reação 3). Essa reação é catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD) que é encontrada em quantidades elevadas nas células de mamíferos. (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). Apesar de não ser considerado um radical livre, pois não tem elétrons desemparelhados na última camada, o  $H_2O_2$  é um metabólito do oxigênio extremamente deletério, porque participa da reação que produz o radical hidroxil. O peróxido de hidrogênio pode induzir alterações cromossômicas e pode romper a coluna do ácido desoxirribonucléico (DNA) (SHAMI & MOREIRA, 2004).



#### - Radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ )

O radical hidroxila é formado quando o peróxido de hidrogênio recebe mais um elétron e um íon hidrogênio. Pode ser formado a partir da reação de Fenton, quando o  $H_2O_2$  reage com íons ferro ou cobre (reação 4). E, também, pode ser produzido pela Reação de Haber-Weiss; quando íons de metais de transição catalisam a reação entre  $H_2O_2$  e superóxido (reação 5) (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). Este radical é considerado o mais reativo na indução de lesões nas moléculas celulares, possui uma vida média muito curta, reagindo rápida e inespecificamente com os alvos celulares mais próximos. Se for produzido próximo ao DNA e a este DNA estiver fixado um metal, poderão ocorrer modificações de bases purínicas e pirimidínicas, levando à inativação ou mutação do DNA. Entre os danos que este radical pode causar, estão também, a inativação de várias proteínas (enzimas e membrana celular), ao oxidar seus grupos sulfidrilas ( $^{\bullet}SH$ ) a pontes dissulfeto ( $^{\bullet}SS$ ); e a lipoperoxidação, isto é, a oxidação dos ácidos graxos polinsaturados das membranas celulares (SHAMI & MOREIRA, 2004). O organismo não dispõe de um sistema enzimático de defesa contra o radical hidroxila, por isso, a capacidade desse radical em lesar células é superior às demais ERO (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000).



#### - Oxigênio singlet ( $^1\text{O}_2$ )

O oxigênio singlet é a forma mais deletéria do oxigênio ao organismo, pois, é a causa ou o intermediário da toxicidade fotoinduzida de  $\text{O}_2$  em organismos vivos (BARREIROS et al, 2006). É a forma excitada de oxigênio molecular e não possui elétrons desemparelhados em sua última camada. Pode ser gerado pelos fagócitos, por indução luminosa, por reações catalisadas por peroxidases e outras. Tem importância em certos eventos biológicos, causando danos às proteínas devido a oxidação de grupos essenciais de aminoácidos, principalmente de triptofano, metionina, histidina e resíduos de cisteína, porém, poucas doenças foram relacionadas à sua presença (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000).

#### 2.1.4 Radicais livres e exercício físico

O exercício físico é uma condição que favorece a geração de radicais livres. Durante a atividade muscular, a demanda energética é aumentada e, para suprir essas necessidades energéticas, o volume de oxigênio fornecido é maior e, com isso, maiores também são as chances de se processarem reduções monoelétrônicas do  $\text{O}_2$ , gerando as espécies reativas de oxigênio. No esforço físico intenso, seja em organismo treinados ou não-treinados, o fluxo de oxigênio pelo músculo pode aumentar cerca de 100 vezes os valores de repouso, e com isso, a quantidade de oxigênio que não é reduzido pela citocromo-oxidase aumenta na mesma proporção do aumento do volume global de  $\text{O}_2$  que é admitido por uma demanda maior da célula (SALVADOR & HENRIQUES, 2004). Além da maior demanda de oxigênio, o abaixamento do pH tecidual advindo do acúmulo de ácido láctico (lactoacidose) e também de corpos cetônicos (cetoacidose), favorece à geração de radicais livres, especialmente do radical hidroxila (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

O exercício físico aumenta a produção de radicais livres, principalmente, devido ao aumento do consumo de oxigênio e à grande ativação do metabolismo mitocondrial. Entretanto outros mecanismos que ocorrem durante o exercício, também influenciam a geração de radicais livres. Os principais mecanismos de produção de radicais livres durante o exercício são:

- O exercício de alta intensidade eleva as concentrações intramusculares de cálcio. Essa situação pode ativar as proteases dependentes de cálcio, as quais, convertem a xantina desidrogenase em xantina oxidase. A xantina desidrogenase usa o  $\text{NAD}^+$  como aceptor de elétrons, já a oxidase, usa o oxigênio molecular como aceitante de elétrons e dessa forma gera o radical superóxido (SIGNORNI & SIGNORINI, 1995).
- Períodos de exercício intenso provocam eventos de isquemia-reperfusão, devido as contrações e relaxamentos do músculo que ocorrem ciclicamente. Durante a contração, a compressão vascular estabelece um quadro de isquemia, ou seja, de hipóxia. No relaxamento, ocorre a perfusão, e com isso, a reoxigenação. Sob condições de hipóxia, os equivalentes reduzidos podem se acumular dentro da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial e na reoxigenação, há ativação de um mecanismo bioquímico que é grande gerador de radicais livres, ocasionando uma explosão (burst respiratório) de reduções monoelétrônicas que podem converter o oxigênio em radical superóxido (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).
- A lesão de fibras musculares e de tecido conectivo ocasionada pela contração muscular durante o exercício, aumenta a ativação dos leucócitos. Essa ativação estimula a produção dos radicais livres para melhorar o mecanismo de defesa. Após o processo de fagocitose realizado pelos neutrófilos, a NADPH oxidase, localizada na membrana celular, converte o oxigênio molecular em superóxido. (LOTUFO *et al.*, 1996). Segundo Tirapequi (2005), após uma corrida de maratona, pode ocorrer um aumento de mais de quatro vezes na contagem de neutrófilos e de 1,4 vezes da capacidade de geração de ERO.
- Aumentos na concentração de cálcio podem ativar a enzima fosfolipase  $A_2$ , a qual, libera o ácido araquidônico a partir dos fosfolídeos. A ciclooxigenase reage com o ácido araquidônico para gerar o radical hidroxil (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).
- O exercício intenso promove a elevação da atividade do ciclo de degradação das purinas. Neste ciclo, a adenosina monofosfato (AMP) é desaminada pela enzima adenilato desaminase, a inosina monofosfato (IMP) que se acumula na musculatura esquelética. Durante o exercício intenso a IMP não se difunde rapidamente do músculo esquelético, isso provoca um acúmulo da IMP na musculatura, podendo levá-la a uma via secundária de metabolização e ocasionando dessa forma a formação de hipoxantina, xantina, ácido úrico, oxi-radicais e peróxido de hidrogênio,

os quais, são produtos finais da degradação de adeninas (SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

- A acidez metabólica decorrente do exercício, pode liberar ferro da transferrina tornando-o disponível para participar da formação do radical hidroxila, através da reação de Fenton. (KOURY & DONANGELO, 2003).

- No exercício, principalmente de alta intensidade, a geração de ATP pode se tornar insuficiente. A exaustão do pool de ATP eleva os níveis de ADP, desencadeando o catabolismo do ADP e a produção do radical superóxido (TIRAPEGUI, 2005).

- O aumento da produção de catecolaminas em decorrência do exercício, pode aumentar a produção de ERO, seja por meio da metabolização pela monoaminoxidase (MAO), seja por autooxidação (TIRAPEGUI, 2005).

Alguns estudos confirmaram o aumento da geração das ERO em consequência do exercício. Souza Jr *et al.* (2005), em seu experimento com maratonistas, verificou que os atletas, após corrida de 20 Km, apresentaram uma elevação nos níveis de malondialdeído (MDA) plasmático. O MDA fornece índice direto de injúria oxidativa resultante de peroxidação lipídica. Castro (2003), também verificou aumento nos níveis de MDA em seu estudo. Esse aumento foi decorrente de 20 minutos de exercício físico em bicicleta ergométrica, em intensidades de 60, 70, e 80% da frequência cardíaca máxima. Entretanto, a maior intensidade foi a que induziu maiores níveis de peroxidação lipídica.

Inal *et al.* (2001), ao analisar o metabolismo anaeróbico em exercício agudo de natação, observou aumento da produção de radicais livres após o exercício.

Conforme Tirapegui (2005), a atividade contrátil aeróbica de curta duração, em torno de 15 minutos, é capaz de induzir uma rápida liberação de radical superóxido do músculo esquelético, *in vivo*, originada principalmente pelos miócitos.

## 2.2 DANOS E PATOLOGIAS ASSOCIADAS AOS RADICAIS LIVRES DE OXIGÊNIO

As ERO estão intimamente relacionadas as vias metabólicas do organismo, por isso, em condições patológicas, ou não, essas espécies químicas compartilham um contínuo convívio com os componentes celulares, podendo desenvolver interações toleráveis, controladas ou, então, desenfreadas e danosas em quaisquer compartimentos. A extensão de danos que as ERO podem provocar na célula é muito grande e eles podem ocorrer em todos os compartimentos celulares, desde o

*pool* enzimático citossólico até a membrana plasmática e organelas subcelulares. Essa capacidade que os radicais livres têm de lesionar as células, é mais ou menos intensa, de acordo com as várias circunstâncias, sendo esse potencial destrutivo dos radicais livre conhecido como poder citotóxico (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

Muitos danos teciduais são causados pelas ações dos radicais livres, entre eles estão: citotoxicidade com lipoperoxidação de membranas, citoesqueletólise, inibição enzimática; mutagênese devido a reação com ácidos nucleicos, por rotura da molécula de DNA e/ou inativação das enzimas da replicação (DNA-polimerase) e da transcrição (RNA-polimerase); estresse mecânico endotelial, originados pela lesão na célula endotelial pelos radicais livres, que favorece a deposição de plaquetas e colesterol e, conseqüentemente, o início do processo aterosclerótico; inativação das antiproteases, que são inativadoras de enzimas líticas; e desagregação de polissacarídeos no tecido conjuntivo, com a despolimerização dos complexos peptidoglicanos por ruptura do ácido hialurônico, ocasionando processos degenerativos especialmente à cartilagem articular (SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

A peroxidação lipídica ou lipoperoxidação, é uma das ações mais importantes desenvolvidas pelas ERO. Essas, especialmente o radical hidroxila, atuam oxidando os componentes lipídicos das membranas, mais intensamente os lipídios insaturados, provocando a formação dos peróxidos lipídicos. A lipoperoxidação ocorre nas membranas celulares, tanto na plasmática, que delimita externamente o citoplasma, como nas membranas intracelulares, como as que compõem as estruturas das organelas subcelulares (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

A peroxidação lipídica nas membranas desencadeia um rol de injúrias na célula. Na membrana plasmática, as alterações membranárias levam a transtornos de permeabilidade, alterando o fluxo iônico e de outras substâncias, perdendo, assim, a necessária seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas á célula. No caso de membranas de organelas intracitoplasmáticas, a alteração de sua estrutura resulta em transtornos na compartimentalização de funções especializadas e no intercâmbio entre os diversos compartimentos celulares. Nos lisossomos, por exemplo, as alterações funcionais de sua membrana levariam ao escape de enzimas hidrolíticas (proteases, glicosidades, nucleases, lípases, fosfatases). As hidrolases lisossômicas compõem um vasto grupo de

enzimas degradadoras, estas, quando liberadas descontroladamente, passam a atacar e destruir indistintamente os componentes estruturais e funcionais da própria célula, como constituintes lipídicos, protéicos, glicídicos e outros. Já as alterações nas membranas das mitocôndrias, podem conduzir à uma redução no poder respiratório desta, levando, assim, a um decréscimo na sua capacidade de reduzir tetraeletronicamente o  $O_2$ , o que, conseqüentemente, resulta em maior surgimento das espécies intermediárias de oxigênio oriundas de reduções monoelétrônicas. Além disso, a produção energética, quantificada em termos de adenosina-trifosfato (ATP), diminui, condicionando aportes insuficientes à grande demanda da célula para suprir necessidades frente à atividade biossintética. As ações desagregadoras sobre as estruturas que atuam na manutenção da morfologia celular, exercendo função de citoesqueleto, no caso, os microtúbulos e microfilamentos, promovem drásticas alterações na forma da célula e suas funções interativas, contribuindo para a perda das características funcionais da membrana plasmática. (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995)

Os danos teciduais, ocasionados pelas ações dos radicais livres, estão relacionados com a etiogênese de um grande número de doenças, como, também, com o processo de envelhecimento. Segundo Halliwell e Gutteridge (1999), os efeitos tóxicos dos radicais livres estão relacionados com doenças como câncer, aterosclerose, cataratas, sobrecarga de ferro e cobre, doença de Alzheimer, diabetes, inflamações crônicas, doenças auto-imunes e situações de injúria por isquemia. Conforme sua participação seja mais ou menos intensa na gênese de um distúrbio metabólico, as doenças por radicais livres podem ser classificadas como: de natureza genética, genético-ambiental e ambiental (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

As doenças de origem genética são aquelas provenientes de distúrbios autossômicos recessivos, em que, há uma falha na codificação para a síntese de determinadas enzimas, neste caso, na oxidação das enzimas antioxidantes (catalase, glutationala-peroxidase, superóxido-dismutase); ou, então, ocorre a ausência de outro composto qualquer, que normalmente tem extensas implicações metabólicas. O defeito genético pode estar diretamente implicado na geração aumentada das espécies radicais ou então na diminuição e até omissão da resposta defensiva contra essas espécies (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

As doenças genético-ambientais são aquelas em que há uma predisposição bioquímica que é desencadeada e agravada pela exposição a poluentes, como por exemplo: gases, resíduos industriais e fumaça do cigarro. Essa interação entre fatores genéticos e ambientais está relacionada com a etiogênese de várias patologias como certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, doença de Parkinson e enfisema pulmonar. Essas patologias têm um fator desencadeante, secundário e externo, que quando em níveis exarcebados, não pode ser combatido com eficácia, originando dessa forma, lesões degenerativas mais sérias, normalmente de caráter crônico-progressivo (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

As doenças de natureza ambiental gerada por radicais livres envolvem processos degenerativos, como osteoartrite, processos oclusivos vasculares por aterosclerose, certos cânceres e processos de envelhecimento acelerado. Ainda, nesse grupo, tem-se o envolvimento de natureza iatrogênica, em que o uso de fármacos no tratamento de uma patologia primária dá origem a complicações secundárias, visto que, muitas drogas podem propiciar a formação de radicais livres em abundância durante o processo terapêutico. A exemplo disso, estão a quimioterapia antineoplásica, que é geradora de espécies de radicais e a quimioterapia antimetabólica que é uma condição que favorece a formação abundante de ERO. Outra condição de iatrogenia ocorre na oxigenoterapia, terapia muito comum em bebês prematuros. Nesses pacientes, devido à imaturidade pulmonar, o uso do oxigênio torna-se uma necessidade, porém, se a administração de oxigênio for feita de modo intensivo e sem a presença de elementos oxidant scavengers, terá como consequência danos aos tecidos, principalmente na região ocular, provocando a fibroplasia retrolental, por má formação peroxidativa lipídica na retina (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

As principais doenças associadas a ERO são:

#### **- Neoplasia**

As neoplasias são originadas a partir da interação entre fatores genéticos e ambientais. As mudanças genéticas iniciais no DNA são denominadas de iniciação e podem ser adquiridas por meio da ação de carcinogênicos químicos, agentes infecciosos ou físicos. A iniciação requer não somente a modificação do DNA, mas a fixação da mutação após o reparo, o que pode ocorrer após algumas divisões celulares. Após a iniciação celular ocorre a promoção das células iniciadas. Os

promotores tumorais causam a expressão fenotípica das células através da seleção e expansão clonal. Alguns exemplos de promotores são os hormônios, como os androgênios, ligados ao câncer de próstata; e estrogênios, ligados ao câncer de mama e útero. O estágio final da carcinogênese, a progressão, ocorre com a transformação de uma lesão pré-maligna em maligna. Esse estágio envolve mudanças adicionais no DNA e é, normalmente, acompanhado por um rápido crescimento celular, metástase e grande instabilidade genética (BRAUNWALD et al., 2001).

As ERO estão relacionadas com neoplasias devido aos diversos danos que podem causar ao DNA, como quebras de cadeia, mutações e perda descontínua de heterozigose (MIGLIORE & COPPEDE, 2002). As mutações no DNA podem levar à ativação de proto-oncogenes, que segundo Halliwell e Gutteridge (2002), desempenham funções nas três etapas da carcinogênese pois estão normalmente relacionados ao crescimento celular, codificação de receptores de membrana e de proteínas envolvidas no controle da morte celular. Além dos danos diretos causados pelos radicais livres ao DNA, os produtos resultantes da mutação lipídica também podem ser mutagênicos (BARBIN, 2000).

#### **- Doenças neurovegetativas**

A doença de Parkinson, Alzheimer e esclerose lateral amiotrófica (ELA) estão entre as doenças neurovegetativas mais comuns. O aumento da idade é um dos fatores de risco comum a essas doenças, mas, além disso, as disfunções mitocondriais e o estresse oxidativo possuem um papel importante na morte neuronal característica dessas doenças (ESPOSITO et al, 2002).

O cérebro é muito suscetível ao estresse oxidativo, o metabolismo de alguns neurotransmissores, como glutamato e dopamina, gera ERO; as membranas neuronais contêm níveis elevados de lipídios poliinsaturados capazes de sofrer peroxidação lipídica e, além disso, algumas células gliais do tipo microglia, macrófagos fixos do SNC, são capazes de gerar superóxido e peróxido de hidrogênio. As ERO produzidas podem oxidar lipídios de membrana, proteínas e/ou DNA, induzindo apoptose ou necrose (HALLIWELL, 2001). Sastry e Rao (2000); em seus estudos, demonstraram a relação existente entre apoptose e a patogênese das desordens neurovegetativas. De acordo com Mattson e Camaldola (2001), além da

oxidação, os radicais livres podem atuar como mediadores de respostas intracelulares, ativando o fator nuclear NF-kB, o qual, regula a expressão de vários genes, como SOD-e, que codifica a enzima antioxidante SodMn. Ainda segundo o autor, pacientes portadores de doenças neurovegetativas apresentaram níveis elevados do fator de transcrição NF-kB em regiões do SNC.

### **- Diabetes melito**

O diabetes melito caracteriza-se por uma desordem no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas. Segundo Crawford e Cotran (2000), existem fatores que podem contribuir, em maior ou menor proporção, dependendo da etiologia do diabetes, para a hiperglicemia, como a redução da secreção da insulina, o decréscimo da utilização celular da glicose e o aumento na produção hepática desse carboidrato. O diabetes melito poder ser classificado em: diabetes melito insulino dependente ou diabetes tipo I, que é caracterizada como diabete juvenil; e, diabetes melito não-insulino dependente ou diabetes tipo II, que é conhecido como diabetes da maturidade. No diabetes tipo I pode ocorrer redução substancial ou inexistência da secreção de insulina. Em virtude disso, a gordura corporal acaba sendo metabolizada como fonte de energia, podendo ter como consequência desequilíbrios de fluidos eletrólitos que podem levar ao coma e eventualmente à morte. O diabetes tipo II caracteriza-se pela excessiva produção de glicose hepática, diminuição da secreção e/ou produção de insulina (SCARPELLI, 2002).

Alguns estudos demonstram haver relação entre estresse oxidativo e diabetes. Segundo estes, dois fatores contribuem para o aumento do estresse oxidativo, que em níveis elevados levam à complicações diabéticas. Yamagishi et al (2001), em seu estudo, sugere que um dos fatores responsável pela geração do estresse oxidativo, principalmente em nível mitocondrial, é a hiperglicemia. O outro fator é a B-oxidação, que elevada em pacientes diabéticos, contribui com a geração de ERRO. Por sua vez, níveis elevados de estresse oxidativo levam à ativação do fator de transcrição NF-kB, que pode levar à resistência à insulina e disfunção das células B pancreáticas, e assim, ter como consequência complicações diabéticas.

### **- Aterosclerose**

A aterosclerose é uma doença das artérias que se caracteriza por um complexo de alterações bioquímicas, morfológicas, funcionais e clínicas da íntima. Essas alterações são causadas por acúmulo de células de músculo liso, lipídeos e células endoteliais. A doença pode se localizar em qualquer artéria, porém, é mais comum na aorta atingindo principalmente artérias que suprem o coração, o cérebro, os rins, os membros inferiores e o intestino delgado. As principais conseqüências são aneurismas da aorta, acidente vascular cerebral e o infarto do miocárdio. A aterosclerose é uma doença fortemente influenciada por fatores ambientais. O fator genético também influencia, porém, ela está mais relacionada aos hábitos de vida dos indivíduos, principalmente, à alimentação rica em alimentos e gorduras de origem animal, que fazem com que o colesterol sanguíneo aumente. Outras condições que favorecem o surgimento e agravamento da doença são a hipertensão, tabagismo, diabetes, envelhecimento e inatividade física (CRAWFORD & COTRAN, 2000).

As lesões ateroscleróticas se classificam em três tipos: estrias lipídicas, placas fibrosas ou ateromas e lesões complicadas. As placas fibrosas, também denominadas placas gordurosas ou ateromas, são as alterações mais importante da aterosclerose, apresentam-se como placas de tamanho variado, com superfície lisa e coloração branco-amarelada, que fazem saliência na luz do vaso. O processo de formação da placa inicia com o desenvolvimento de regiões focais de lesão endotelial. Ocorre o aumento da permeabilidade endotelial, adesão dos monócitos, migração dessas células para a íntima e sua transformação em macrófagos e, posteriormente, a presença de excesso de lipoproteína de baixa densidade (LDL), dá origem a células espumosas (foam cells), que são lipoproteínas englobadas por macrófagos. A seguir, as plaquetas também aderem à parede do vaso, formando trombose e liberando fatores de crescimento derivados das plaquetas ativadas que induzem a migração das células musculares lisas para a íntima. Na profundidade das placas, e também nas suas bordas, nota-se proliferação de capilares que convergem para a lesão. É a partir deles que a placa poder ser progressivamente organizada, chegando mesmo a se transformar em uma lesão cicatricial, fibrosa, contendo pequena quantidade de lipídios (CRAWFORD & COTRAN, 2000).

A relação dos radicais livres com a doença é a oxidação do LDL, que é mediada por radicais livres ou ERO provenientes de células endoteliais ou de

macrófagos. A LDL oxidada contribui para o desenvolvimento da aterosclerose por permanecer mais tempo na circulação e penetrar mais facilmente na íntima das artérias; ser rapidamente fagocitada por macrófagos; induzir a síntese de moléculas de adesão na superfície endotelial, facilitar a aderência de monócitos; estimular a liberação de fatores de crescimento para células musculares lisas; ser citotóxica para as células endoteliais e para as células musculares lisas e ser imunogênica, induzindo a produção de anticorpos contra as lipoproteínas oxidadas. (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995). De acordo com Bareiros *et al* (2006), a oxidação dos lipídios no sangue, promovida pelos radicais livres, agride as paredes das artérias e veias, facilitando o acúmulo desse lipídios, com conseqüente aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral.

Além de ter relação com várias patologias, os radicais livres também podem provocar inflamações e lesões musculares, e com isso, vir a prejudicar o desempenho de atletas. De acordo com Lotufo *et al.* (1996), o radical hidroxila, após cada exercício intenso, promove uma reação inflamatória em cadeia que dura 20 horas. Além disso, as lesões musculares causadas pelos radicais livres, iniciam outra seqüência de radicais livres com duração de dias. Com os danos físicos o sistema imunológico ativa-se e os neutrófilos atuam sobre as células musculares mortas ou danificadas. Nesse processo são gerados novos radicais livres, causando assim novos danos. Sendo assim, após cada sessão de exercício intenso, o atleta sentirá dores e estará inapto para novos exercícios por mais cinco dias. Caso o atleta prossiga com exercício contínuo, o risco de ocorrer novas lesões aumenta e a conseqüência é perda de musculatura e do desempenho esportivo.

De acordo com Tirapegui (2005), a peroxidação lipídica iniciada por radicais livres, diminui a estabilidade das membranas celulares e pode estar associada com a necrose das fibras musculares e liberação de enzimas celulares para o sangue.

### 2.3 ANTIOXIDANTES

O sistema de defesa antioxidante do organismo tem como principal função inibir ou reduzir os danos causados às células pelas espécies reativas de oxigênio, tentando evitar ao máximo que ocorra o estresse oxidativo. Os antioxidantes são capazes de inibir ou minimizar a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos. Todas as células possuem

mecanismos antioxidantes, porém, a composição das defesas difere de tecido a tecido, de tipo de célula a tipo de célula e possivelmente de célula a célula do mesmo tipo, em um determinado tecido. (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999). Ainda, de acordo com Bianchi e Antunes (1999), o desempenho dos antioxidantes dependem dos tipos de radicais livres formados, de onde e como são gerados esse radicais livres e das doses ideais para obter a proteção.

Os antioxidantes podem ser enzimáticos ou não enzimáticos. O sistema enzimático é constituído por quatro enzimas principais: Superóxido dismutase (SOD), Sistema Glutaciona Peroxidase (GPX)/Glutaciona Redutase (GR) e Catalase. O sistema não enzimático também é conhecido como proteção através de pequenas moléculas. Dentre essas moléculas estão as vitaminas A, E e C e a GSH que atua como potente antioxidante. Os antioxidantes não enzimáticos podem ainda ser classificados em antioxidantes endógenos e dietéticos (TIRAPEGUI, 2005).

### 2.3.1 Características dos principais antioxidantes e seus mecanismos de atuação

Os antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, podem agir por meio de três mecanismos. O primeiro mecanismo é o de prevenção, inibindo a formação de radicais livres, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre; outro mecanismo é o de varredura, impedindo o ataque dos radicais livres às células, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular; o último mecanismo é o de reparação, favorecendo a remoção de danos da molécula de DNA e fazendo a reconstituição das membranas celulares danificadas (BIANCHI & ANTUNES, 1999). Segundo Signorini e Signorini (1995), o mecanismo mais utilizado é o de varredura, bloqueando o ataque às células. O sistema enzimático e não enzimático têm relações estreitas nesse mecanismo. Sendo que, os fatores vitamínicos e minerais (antioxidante não enzimáticos), desenvolvem ações conjuntas com os mecanismos enzimáticos anti-radicaais livres.

A atuação dos antioxidantes enzimáticos é específica, de acordo com a circunstância e com a enzima antioxidante que realiza a ação, visto que, cada enzima apresenta habilidades bioquímicas próprias. Os mecanismos de catálise pelas enzimas antioxidantes são altamente eficientes pela velocidade com que conseguem desmembrar os seus substratos. Um só espécime enzimático inativa,

em milésimos de segundo, incontáveis ERO, estando sempre regenerado ao fim da reação. As enzimas antioxidantes são:

- Superóxido Dismutase: a Sod é uma metaloenzima abundante em células aeróbias e uma das mais importantes enzimas antioxidantes. As principais isozimas da SOD, são as dependentes de cobre e zinco (Cu-Zn SOD) e as dependente de manganês (Mn-SOD). A Cu-Zn SOD atua principalmente no citossol, enquanto a Mn-SOD atua na matriz mitocondrial. A ação desta enzima é a dismutação do radical superóxido à peróxido de hidrogênio, que é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas como a Cat e a GPx. (SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

- Catalase: a Cat é uma ferrihemoenzima cuja função principal é a eliminação do peróxido de hidrogênio, promovendo sua catálise até formar água e oxigênio molecular (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). De acordo com Halliwell e Gutteridge (2000), a atividade de catalase encontra-se em organelas subcelulares unidas por uma membrana denominada peroxissoma.. A catalase está presente em todos os órgãos principais do corpo, principalmente no fígado, porém, alguns órgãos, como coração, pulmões e cérebro, por não possuírem peroxissomas, estão mais expostos aos danos provocados pelas espécies reativas de oxigênio. Nesses órgãos, como um mecanismo de defesa, pode ocorrer a difusão de peróxido de hidrogênio para o sangue, onde reage com a Cat eritrocitária. A enzima Cat atua de forma complementar à glutathiona-peroxidase.

- Glutathiona-peroxidase: tem a função de eliminar os peróxidos, atuando sobre os peróxidos lipídicos como sobre a água oxigenada. A GPx é uma seleno-enzima (utiliza selênio como co-fator), que atua em conjunto com a glutathiona redutase (GR), necessitando de glutathiona reduzida (GSH) E NADPH para o perfeito funcionamento do sistema antioxidante. Sua atuação é baseada na oxidação da glutathiona (GSH), convertendo a glutathiona reduzida (GSH) à glutathiona oxidada (GSSG), eliminando o  $H_2O_2$  e formando água (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). A glutathiona oxidada é regenerada pela ação enzimática da glutathiona-redutase, que fornece mais dois hidrogênios, em presença do cofator NADPH. Segundo Schneider e Oliveira (2004), a GPx em associação com outras enzimas, previne a interação do radical superóxido com o peróxido de hidrogênio e íons metálicos que levariam a formação do radical hidroxila, contra o qual não existe sistema enzimático de defesa. A GPx e a Cat têm a mesma função, porém, a afinidade da GPx pelo peróxido de hidrogênio é em torno

de 10 vezes maior que o da Cat, dessa forma, a GPx é mais ativa em baixas concentrações de peróxido, e a Cat passa a atuar mais à medida que a concentração dessa substância aumenta no interior da célula.

O sistema de defesa antioxidante não enzimático inclui compostos sintetizados pelo organismo humano, como também, os ingeridos através da dieta regular ou via suplementação. Esse sistema é constituído principalmente pelos antioxidantes de baixo peso molecular, que desativam diretamente as ERO e que estão presentes no organismo em número e concentração muito maior que os antioxidantes enzimáticos. Entre os antioxidantes não enzimáticos estão os seguintes compostos:

- Vitamina A: sua forma química fisicamente ativa é o retinol, o qual, não é fornecido diretamente pela dieta, mas sim, gerado por clivagem enzimática de produtos, tanto de origem animal como vegetal. As duas fontes de vitamina A nos alimentos são os carotenóides e os retinóides. Sua ação desenvolve-se principalmente na inativação do oxigênio singlet (SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

- Vitamina C (ácido L-ascórbico): nos seres humanos, pode ser obtida somente através da dieta. É um antioxidante hidrossolúvel que pode neutralizar diretamente as ERO. Segundo Halliwell e Gutteridge (2000), essa vitamina apresenta, in vitro, várias propriedades antioxidantes, protegendo biomoléculas contra os danos causados pelas ERO. Sua atuação antioxidante ocorre a partir da doação de elétrons, tornando-se um agente redutor, e prevenindo outros compostos de serem oxidados. Nas reações de oxidação a vitamina C doa um elétron à espécie reativa, estabilizando-a e formando o radical ascorbil, bastante estável e que pode ser reduzido a ácido ascórbico ou oxidado a ácido dehidroascórbico, que é instável e rapidamente produz ácido oxálico. A facilidade com que doa hidrogênios torna a vitamina C um redutor muito eficaz em praticamente todos os tecidos. (PADAYATTY *et al.*, 2003). Por ser uma substância hidrossolúvel, e por isso, rapidamente excretada, a vitamina C necessita ser suprida de forma constante pela dieta, a fim de satisfazer as concentrações tissulares adequadas em sua forma reduzida (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

- Vitamina E (tocoferol): é varredora do radical peroxil, e também, bloqueia a propagação das reações em cadeia induzidas pelos radicais livres nas membranas biológicas (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999). Ainda, a vitamina E pode exercer

uma ação cooperativa, protegendo a vitamina A e outros retinóis da degradação, impedindo a peroxidação de sua cadeia carbônica insaturada, aumentando a eficiência vitamínica de tais compostos e melhorando as condições de armazenamento no organismo. É um importante antioxidante lipofílico e tem mais eficiência quando há altas tensões de O<sub>2</sub> no meio (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995).

- Polifenóis: são compostos com um ou mais anéis aromáticos carregando grupos hidroxilas, que varrem radicais livres pela formação de radicais fenoxil. Os grupos de polifenóis que têm atividade antioxidante são os taninos e os flavonóides, presente nos vegetais. Esses previnem os danos causados pelos radicais por meio de dois mecanismos, ligação com metal e varredura de radicais livres (SALVADOR & HENRIQUES, 2004). Segundo Barreiros *et al* (2006), os polifenóis, particularmente os flavonóides, possuem estrutura ideal para o seqüestro de radicais livres, sendo mais efetivos que as vitaminas C e E.

- Bilirrubina: é o produto final da degradação da hemoglobina em mamíferos. Segundo Halliwell e Gutteridge (2000), sua ação oxidante se dá por meio da varredura dos radicais peroxil e do oxigênio singlet. Pode ainda, quando se complexa com a albumina, exercer um importante papel contra danos causados por radicais livres, evitando a oxidação de proteínas e ácidos graxos.

- Carotenóides: representado pelo beta-caroteno, licopeno e luteína. Desativam o oxigênio singlet, inibem a lipoperoxidação em baixas concentrações de oxigênio e são varredores de radicais livres. A desativação do oxigênio singlet pode se dar de duas formas, pela transferência física da energia de excitação do <sup>1</sup>O<sub>2</sub> para o carotenóide ou pela reação química do carotenóide com o <sup>1</sup>O<sub>2</sub> (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000).

- Glutathione (GSH): é varredora de radicais livres, tendo sua capacidade redutora determinada pelo grupamento – SH, presente na cisteína. É considerada um dos agentes mais importantes do sistema de defesa antioxidante da célula, protegendo-a contra a lesão resultante da exposição à metais, oxigênio hiperbárico, ozona, radiação e luz ultravioleta. Além disto, atua como transportadora e reservatório da cisteína e participa da detoxificação de agentes químicos e da eliminação de produtos de lipoperoxidação (SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

- Zinco: esse mineral tem uma ação antioxidante indireta, visto que, não é ativo em reações de óxido-redução. Seus mecanismos antioxidantes são a regulação da

expressão da metalotioneína, a atividade da enzima superóxido dismutase e a proteção de grupamentos sulfidrila de proteínas de membranas celulares por antagonismo com metais pró-oxidantes como cobre e ferro (KOURY & DONANGELO, 2003).

### 2.3.2 Antioxidantes e exercício

O sistema de defesa antioxidante pode sofrer adaptações em resposta ao exercício físico. Solicitações metabólicas mais intensas, como no caso do exercício, que favorece a geração de radicais livres, podem aumentar as concentrações de enzimas antioxidantes. De acordo com Signorini e Signorini (1995), o aumento da capacidade enzimática para metabolizar  $O_2$  na célula, é normalmente acompanhado de um aumento das enzimas especializadas na vigilância antioxidante que desativam as ERO. Tentando desse modo se estabelecer um equilíbrio entre ações agressoras e ações defensoras.

As adaptações das defesas antioxidantes podem ser agudas, em resposta à uma sessão de exercício; ou crônicas, em resposta ao treinamento físico, isto é, à várias sessões de exercício. A adaptação aguda ocorre devido a uma maior demanda antioxidante, em consequência, da maior produção de radicais livres que ocorre no exercício físico. Já a adaptação crônica, se dá em virtude da maior demanda bioquímica. O organismo aumenta sua capacidade enzimática de metabolizar oxigênio com o treinamento, e com isso, uma maior demanda antioxidante é exigida. Segundo Signorini e Signorini (1995), o coração treinado é um exemplo disso. Com o treinamento, o coração assume um perfil bioquímico mais exigente, e assim, um aporte adequado de antioxidantes é condição fundamental à proteção do órgão durante a execução de esforços intensos, tanto ao seu parênquima contrátil como ao tecido conjuntivo das válvulas cardíacas.

A literatura indica tanto aumento quanto diminuição na atividade das enzimas de defesa antioxidante. De acordo com Oliveira *et al* (2004), o treinamento físico aeróbio é capaz de promover aumentos das defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas. Em seu estudo com ratos submetidos a um treinamento físico aeróbio de 10 semanas em esteira rolante, verificou um aumento das atividades das enzimas antioxidantes SOD, GPx, e GR. Segundo o autor, um aumento da síntese de proteínas enzimáticas depende de efeitos cumulativos de várias sessões de

exercício, isto é, do treinamento físico. Além disso, o treinamento físico influencia a célula a incorporar maior quantidade de antioxidante exógeno fornecido pela dieta.

Castro (2003) em seu estudo, verificou aumento da enzima antioxidante Catalase em resposta ao exercício físico executado em bicicleta ergométrica, a 60, 70 e 80% da frequência cardíaca máxima, durante 20 minutos.

Zoppi *et al.* (2003) ao analisar a ação das enzimas CAT e GR em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva de cinco meses, encontrou um aumento da atividade da enzima GR nos dois primeiros meses de competição, e uma queda significativa nos dois últimos meses. Em compensação a enzima CAT não apresentou aumento significativo nos três primeiros meses, mas nos dois últimos teve sua atividade significativamente aumentada. De acordo com o autor, as enzimas parecem funcionar de forma integrada, pois a medida que a atividade da GR diminui, a atividade da CAT aumenta.

Por outro lado, há outros estudos que demonstram diminuições na atividade das enzimas oxidativas, ou então, a falta de adaptação dessas em resposta ao exercício físico e maior demanda metabólica. Segundo Souza Jr. *et al.* (2005), o treinamento físico diário não desenvolve a capacidade antioxidante de atletas especialistas em maratona de forma a protegê-los de lesões oxidativas por ERO. Em seu estudo, Prada *et al.* (2004) verificou reduções significativas na atividade das enzimas Cat e GR nos eritrócitos dos ratos submetidos ao treinamento de natação na intensidade equivalente ao limiar anaeróbico, por um período de 4 semanas, com frequência de 5 vezes por semana e duração de 1 hora por dia.

Segundo Tirapegui (2005), após o exercício físico intenso pode ocorrer diminuição da atividade de enzimas antioxidantes no plasma e eritrócitos, causada pela inativação e proteólise das mesmas e estimuladas pela elevada produção de radicais livres.

A resposta das enzimas antioxidantes, aumentando ou diminuindo suas ações em decorrência do exercício, pode ser devido a vários fatores, como protocolo do exercício; tipo do ergômetro utilizado, como por exemplo, natação, corrida ou exercício contínuo; e tipo de fibra muscular estudada (PRADA *et al.*, 2004). De acordo com Powers *et al.* (1999), o treinamento de alta intensidade e longa duração é mais efetivo em induzir aumento na atividade das enzimas antioxidantes do

músculo. E ainda, as fibras do tipo I, oxidativas, apresentam atividade mais elevada das enzimas antioxidantes do que as do tipo II, glicolíticas

Segundo Liu *et al.* (2000) a resposta das enzimas, além de variarem de acordo com o tipo de exercício, também diferem de órgão para órgão. Em seu estudo, o qual, verificou as repostas oxidantes e antioxidantes, no cérebro, fígado, coração, rim e músculos de ratos treinados aerobiamente; demonstrou que as enzimas têm ações diferentes em cada órgão. O coração, por exemplo, apresentou diminuição da ação de enzimas antioxidantes, enquanto o cérebro, teve ação aumentada das mesmas. Conforme Tirapegui (2005), cada órgão ou tecido do organismo pode ajustar as concentrações das enzimas antioxidantes ao exercício regular, de forma a estar de acordo com o seu padrão metabólico e a disponibilidade dos antioxidantes. Entretanto, essas adaptações dependem também da capacidade individual de adaptação muscular ao exercício.

#### 2.4 ESTRESSE OXIDATIVO E EXERCÍCIO

O organismo procura manter sempre o equilíbrio entre os sistemas agressores e defensores, porém, muitas vezes esse equilíbrio pode ser quebrado. O exercício, por promover um aumento da produção de radicais livres, pode fazer com que isso ocorra, gerando o estresse oxidativo. O termo estresse oxidativo é utilizado em circunstâncias nas quais o excesso de radicais livres resulta em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos. O organismo encontra-se sob estresse oxidativo quando há um desequilíbrio entre a formação de radicais livres e o sistema de defesa antioxidante, com predominância no primeiro (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995). Esse estresse pode ocorrer devido a uma maior produção de ERO e/ou a uma diminuição na capacidade de defesa antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

O estresse oxidativo decorrente do exercício pode ocorrer em pessoas treinadas ou não, porém, as pessoas treinadas podem estar mais suscetíveis a esse estresse. O organismo treinado possui uma maior capacidade de admissão de O<sub>2</sub> aos tecidos, e isso, implica um maior consumo de antioxidantes pela célula. Se essas necessidades maiores de antioxidantes não forem satisfeitas, o organismo sofrerá com as conseqüências do estresse oxidativo patológico. Sob condições de grande esforço físico, a geração aumentada de radicais livres de oxigênio é uma

condição de risco à célula, e maior ainda nas células do organismo treinado, pois neste o estresse oxidativo pode ter uma expressividade muito mais intensa (SIGNORINI & SIGNORINI, 1995). Por outro lado, Tirapegui (2005) afirma que o treinamento reduz a susceptibilidade dos músculos aos radicais livres e induz o aumento das enzimas antioxidantes.

As pesquisas que relacionam o estresse oxidativo com o exercício são conflitantes. Alguns estudos indicam que o exercício induz a um estresse oxidativo, enquanto outros demonstram que isso não ocorre. Palazzetti *et al.* (2003) ao avaliar os efeitos de um duatlon simulado, verificou que os atletas apresentaram índices de lipoperoxidação e queda da relação GSH:GSSG, indicando aumento da produção de radicais livres, diminuição da ação das enzimas antioxidantes e conseqüente estresse oxidativo. Seguindo a mesma linha de investigação, Souza Jr. *et al.* (2005), verificou elevação na quimioluminescência urinária (reflete a extensão de processos de peroxidação lipídica tecidual) em jogadores de futebol, após realização de uma única sessão de treinamento em jogo simulado. Indicando que esse tipo de treinamento não propiciou efeito significativo em estimular as defesas antioxidantes de forma a proteger organismo dos atletas durante o período de treinamento.

Gandra *et al.* (2004) verificou estresse oxidativo ao submeter ratos treinados a um protocolo de corrida em esteira, com aumento no número de sessões diárias de exercícios. Os resultados demonstraram atividade significativamente diminuída das enzimas CAT e GR eritrocitárias, em paralelo com um aumento na concentração de proteína de estresse HSP72 nos leucócitos dos ratos. Também em estudos com ratos, Prada *et al.* (2004), encontrou indícios de estresse oxidativo, após submetê-los a treinamento de natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio.

Child *et al.* (1998), ao submeter indivíduos treinados a uma prova de meia maratona; observou aumento da medida capacidade antioxidante total, mas também, encontrou aumento das concentrações de malondilaldeído, sugerindo que o aumento da capacidade antioxidante não foi suficiente para impedir o estresse oxidativo.

Contrariando as pesquisas que verificaram estresse oxidativo, Schneider e Oliveira (2004) afirmam que ratos idosos apresentaram, após onze semanas de treinamento aeróbio, uma resposta reduzida ao estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio. Sugerindo que tenham ocorrido adaptações compensatórias

no sistema antioxidante tecidual. Verificaram ainda, haver uma correlação positiva entre a frequência cardíaca basal e os níveis de peroxidação, ou seja, quanto maior a FC basal, maiores eram os níveis de lesão radicalar.

Zoppi *et al.* (2005) não encontrou alterações significativas ao analisar o comportamento dos marcadores de estresse oxidativo e lesão muscular em jogadores de futebol ao longo de uma temporada competitiva de cinco meses.

Estudos indicam que o estresse oxidativo é dependente do tipo e da intensidade da atividade física. Segundo Souza Jr. *et al.*(2005) as atividades físicas de longa duração e alta intensidade, praticadas por humanos, promovem mais estresse oxidativo do que atividades de curta e média duração realizadas em alta intensidade. De acordo com Tirapegui (2005), o exercício de alta intensidade e extenuante pode causar danos musculares, em virtude de lesões oxidativas promovidas pelos radicais livres.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 PLANEJAMENTO DA PESQUISA**

Este estudo será uma pesquisa bibliográfica. Segundo Cruz (2004) e Lakatos (2005), este tipo de pesquisa se caracteriza por ser uma revisão de toda a literatura já publicada que se possa ter acesso, podendo, ser delimitado a época e os tipos de fontes a serem consultadas. A finalidade é colocar o pesquisador em contato direto com o que foi escrito sobre determinado assunto, oferecendo meios para resolver, não somente problemas já conhecidos, como também, explorar áreas que são pouco discutidas. A pesquisa bibliográfica leva ao aprendizado sobre uma determinada área e possibilita o exame de um tema sob novo enfoque ou abordagem, chegando a conclusões inovadoras.

#### **3.2 PROCEDIMENTOS**

Para a realização desta pesquisa serão consultados livros, periódicos, artigos, monografias, dissertações e teses publicados a partir do ano de 1990 até a data atual.

Os locais de pesquisa serão livrarias e bibliotecas situadas dentro do Município de Curitiba. Além disso, serão realizadas consultas on-line em sites de pesquisa científica.

#### 4. CONCLUSÃO

A partir da pesquisa realizada e dos autores revisados, foi possível estabelecer as seguintes conclusões:

- O exercício aumenta a produção das ERO. Podendo esse aumento ser ou não significativo para a promoção do estresse oxidativo. O fator que mais influencia esse aumento é a elevação do consumo de oxigênio que ocorre durante o exercício.
- O exercício pode aumentar ou não as defesas antioxidantes. As pesquisas apresentaram-se conflitantes com relação ao aumento das defesas antioxidantes em resposta ao exercício. A ação do sistema antioxidante durante e depois do exercício mostrou ser dependente do protocolo do exercício aplicado, do ergômetro utilizado, da intensidade do exercício e do tipo de fibra muscular.
- O exercício de alta intensidade é mais efetivo em aumentar as defesas antioxidantes.
- A fibra muscular do tipo I possui maior capacidade de adaptação antioxidante do que as fibras do tipo II.
- O treinamento aeróbio gera adaptações do sistema antioxidante. O organismo treinado possui maior capacidade de metabolizar o oxigênio e com isso uma maior demanda antioxidante é exigida. Com o treinamento, o sistema antioxidante vai aos poucos se adaptando a essa maior demanda e aumentando as suas ações.
- O exercício de alta intensidade e longa duração é o mais efetivo em promover o estresse oxidativo. Embora as defesas antioxidantes aumentem em decorrência desse tipo de exercício, esse aumento, na maioria das vezes, não é suficiente para impedir o estresse oxidativo.

Em síntese, o exercício pode promover o estresse oxidativo, porém, depende de muitos fatores. Dentre esses fatores, os que mais influenciam são a intensidade do exercício, o tipo do exercício e o nível de condicionamento físico e nutricional do praticante.

É necessário a realização de mais pesquisas, principalmente as laboratoriais, para chegar-se a conclusões mais precisas, pois os estudos até então realizados são bastante divergentes. Talvez alguns estudos não foram capazes de demonstrar um desequilíbrio nos sistemas pró e antioxidantes em razão do curto tempo de exposição ao exercício.

Nesse sentido, recomenda-se, estudos envolvendo protocolos que contemplem exercícios de longa duração e/ou extenuantes aliados a uma dieta rica em nutrientes antioxidantes, além de estudos que contemplem exercícios predominantemente anaeróbio, visto que, a maioria dos estudos realizados analisou os efeitos do exercício aeróbio.

Pesquisas que verifiquem a relação dos radicais livres e do sistema antioxidante com o mesmo exercício são também indicadas, pois há muitas pesquisas que verificam somente a produção dos radicais livres e outras somente as ações antioxidantes, não sendo possível verificar se ocorreu o estresse oxidativo, pois, para isso, seria necessário a verificação das duas variáveis durante o mesmo exercício.

Para finalizar recomendam-se estudos relacionando o estresse oxidativo promovido pelo exercício, com a fadiga e a lesão muscular, pois se sabe que o estresse oxidativo provoca danos ao organismo, mas poucos estudos relacionam esse estresse com danos comuns entre os praticantes de exercícios e atletas.

## REFERÊNCIAS

- BARREIROS, *et al.* Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, 29(1): 113-123, jan./fev. 2006.
- BARBIN, A. Etheno-adduct-forming chemicals: from mutagenicity testing to tumor mutation spectra. **Mutat. Res**, 462: 55-69, 2000.
- BIANCHI, M. de L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais Livres e os princípios antioxidantes da dieta. **Rev. Nut**, 12(2): 123-130, maio./ago. 1999.
- BRAUNWALD, E. *et al.* **Harrison's principles of internal medicine**. 15. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2001.
- CASTRO, M. A. C de. **Estudo comparativo da produção de radicais livres e catalase nos exercícios de intensidade e duração moderadas**. Brasília, 2003, 68 p. Dissertação. Universidade Católica de Brasília.
- CHILD, R. B. *et al.* Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. **Med. Sci. Sports Exerc.**, 30: 1603-1607, 1998.
- CÓRDOVA, A.; NAVAS, F. J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 6(5): 204-208, set./out. 2000.
- CRAWFORD, J. M.; COTRAN, R. S. **Robbins**: Patologia estrutural e funcional. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- CRUZ, C.; RIBEIRO, U. **Metodologia científica**: teoria e prática. 2. ed. Rio de Janeiro: Axcel Books, 2004.

ESSIG, D. A.; NOSEK, T. M. Muscle fatigue and induction of stress protein genes: a dual function of reactive oxygen species. **Can. J. Appl. Physiol**, 22 (5): 409-428, oct. 1997.

ESPOSITO, E. *et al.* A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiol. Aging*, 23: 719-735, 2002.

GANDRA, P. G. *et al.* Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante para avaliação do exercício físico. **Quim. Nova**, 27(6):980-985, 2004.

HALLIWELL, B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. **Drugs Anging**, 18: 685-716, 2001.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.C. **Free radical in biology and medicine**. 3. ed. New York: Oxford, 2000.

INAL, M. *et al.* Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. **Med Sci Sports Exerc**, 33:564-567, 2001.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, Campinas, 16: 433-441, out./dez. 2003.

LIU. J. *et al.* Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. **J Appl Physiol**, 89: 21-28, 2000.

LOTUFO, R. *et al.* O esforço físico e a formação de radicais livres. **Rev. Amb. Medicina Desportiva**, 9:13-15, 1996.

MARCONI, M. de A.; LAKATOS, E. M. **Fundamentos de metodologia científica**. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2005.

MATTSON, M. P.; CAMALDOLA, S. NFkB in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. **J. Clin. Invest**, 107: 247-250, 2001.

MIGLIORE, L.; COPPEDE, F. Genetic and environmental factors in cancer and neurodegenerative disease. **Mutat. Res**, 512: 135-153, 2002.

NIES, A.M. *et al.* DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. **Int J Sports Med**, 17 (6): 397-403, aug. 1996.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

OLIVEIRA, E. M. *et al.* Nutrição e bioquímica do exercício. **Rev. Paul. Educ. Fís**, 18: 17-19, ago. 2004.

OLSZEWER, E. **Radicais livres em medicina**. 2.ed. São Paulo: Fundo Editorial Byk, 1995.

PADAYATTY, S. J. *et al.* Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. **J. Am. Coll. Nutr.** 22(1): 18-35, 2003.

PALAZZETTI, S. *et al.* Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. **Can J Appl Physiol**, 28(4): 588-604, ago. 2003.

PERES, W. **Radicais livres em níveis biológicos**. São Paulo: Educat. 1995.

POWERS, S. K. *et al.* Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. **Medicine & Science in Sports e exercise**, 31(7): 987-997, jul. 1999.

PRADA, F.J.A. *et al.* Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **Rev Bras Ciências e Mov**, 12(2): 29-34, 2004.

ROBBINS, S. L. **Patologia estrutural e funcional**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. (Orgs). **Radicais Livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: Ulbra, 2004.

SASTRY, P. S.; RAO, K. S. Apoptosis and the nervous system. **Journal Neurochem**, 74: 1-10, 2000.

SCARPELLI, D. G. **Patologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. de. Radicais Livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 10(4): 308-313, jul./ago. 2004.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutrição*, Campinas, 17: 227-236, abr./jun. 2004.

SIGNORINI, J. L.; SIGNORINI, S. L. **Atividade física e radicais livres**: aspectos biológicos, químicos, fisiopatológicos e preventivos. São Paulo: Ícone Editora, 1995.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, 15: 71-81, jan./abr. 2002.

SOUZA JR., T. P. *et al.* Efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. **Rev. Bras. Med. Esporte**, 11(1): 91-95, 2005.

TIRAPEGUI, J. **Nutrição metabolismo e suplementação na atividade física**. São Paulo: Atheneu, 2005.

ZOPPI, C. C *et al.* Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. **Rev. Paul. Educ. Física**, 17(2):119-130, 2003.

YAMAGISHI, S. et al. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic kinase A. **J. Biol. Chem**, 276: 250-252, 2001.