

MICHELE DE SOUZA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO E
 α -TOCOFEROL SOBRE OS BIOMARCADORES DE LESÃO MUSCULAR
EM ATLETAS DE UMA EQUIPE MASCULINA DE ALTO RENDIMENTO
DE VOLEIBOL.**

FLORIANÓPOLIS - SC

2008

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE E ESPORTES - CEFID**

MICHELE DE SOUZA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO E
 α -TOCOFEROL SOBRE OS BIOMARCADORES DE LESÃO
MUSCULAR EM ATLETAS DE UMA EQUIPE MASCULINA DE ALTO
RENDIMENTO DE VOLEIBOL.**

Dissertação de Mestrado apresentada à banca examinadora como requisito parcial para a obtenção do título de mestre no Programa de Pós Graduação *Scripto Sensu* em Ciências do Movimento Humano, da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Monique da Silva Gevaerd

FLORIANÓPOLIS - SC

2008

MICHELE DE SOUZA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO E
 α -TOCOFEROL SOBRE OS BIOMARCADORES DE LESÃO
MUSCULAR EM ATLETAS DE UMA EQUIPE MASCULINA DE ALTO
RENDIMENTO DE VOLEIBOL.**

Dissertação de Mestrado aprovada como requisito parcial para a obtenção do título de mestre no Programa de Pós Graduação *Scripto Sensu* em Ciências do Movimento Humano, da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Banca Examinadora:

Orientadora:

**Prof^a. Dr^a Monique da Silva Gevaerd
UDESC – SC**

Membro:

**Prof^a. Dr^a. Vera Lúcia Cardoso Garcia Tramonte
UFSC – SC**

Membro:

**Prof. Dr. Fernando Roberto de Oliveira
UFLA – MG**

Membro:

**Prof. Dr. Sebastião Iberes Lopes Melo
UDESC – SC**

Membro:

**Prof^a. Dr^a. Susana Cristina Domenech
UDESC – SC**

Florianópolis – SC, 21/02/2008.

À minha mãe, que não tem poupado esforços para que eu pudesse chegar até aqui e ao meu pai, que mesmo não estando presente fisicamente, consigo sentir o sorriso de felicidade e orgulho neste momento...

AGRADECIMENTOS

Chegou o momento de agradecer. Como sabemos, agradecer nem sempre é fácil, pois muitas vezes cometemos injustiças e por grave esquecimento não mencionamos nomes de pessoas que também nos foram caras e imprescindíveis para a conclusão desta jornada.

Hoje eu sei que o mais importante é o fato de aprendermos. Aprendermos sempre coisas novas... aprender o que ainda não sabemos, ou o que pensamos que sabemos, mas na verdade não conhecemos o suficiente. Ah! E como existem coisas a serem aprendidas! E por isso pretendo ser alguém sempre em busca de aprendizado.

Nesta jornada, gostei de ter aprendido muitas coisas novas, gostei até de aprender que existem pessoas que se identificam, ou não, que se aventuram no mundo da pesquisa não é fácil, porém surpreendente. Mas com certeza o que eu mais gostei foi aprender que o esforço vale a pena! Sim, hoje eu sei!

Gostaria de dizer que nada na vida conquistamos sozinhos. Sempre precisamos de ajuda para alcançarmos os nossos objetivos. Muitas vezes um simples gesto pode mudar a nossa vida e contribuir para o nosso sucesso. Durante esta caminhada, tive a oportunidade de conviver com muitas pessoas, pessoas que me ensinaram virtudes e em quem, pela nobreza das atitudes, me espelharei sempre para ser uma pessoa cada vez melhor. É verdade, também convivi com aquelas, que também me ensinaram... a como não devo jamais agir durante a minha vida. Mesmo assim, todo aprendizado é válido...

Por tudo isso, queria iniciar meus agradecimentos referindo-me a Deus, que sempre esteve presente iluminando e guiando meu caminho.

Meus agradecimentos a minha orientadora, Professora Doutora Monique da Silva Gevaerd, que logo me abriu a porta que me encaminhou para este trabalho.

Pela disponibilidade revelada ao longo destes quatro anos de convívio. E pelas críticas e sugestões relevantes feitas durante a orientação.

À equipe de voleibol da CIMED, que prontamente aceitou o convite para a realização deste estudo, bem como foi a responsável pela confecção das vitaminas, sem as quais não seria possível a pesquisa.

Ao Professor Doutor Fernando Roberto de Oliveira, pelas suas reflexões criativas sobre este estudo, as quais muito me ajudaram a compreendê-lo e a realizar uma análise crítica sobre o mesmo, e pela sua presença nesta banca de mestrado, meus sinceros agradecimentos.

À Professora Doutora Susana Cristina Domenech, por ter me aceitado como orientanda no início deste trabalho e também por fazer parte desta banca.

Ao Professor Doutor Sebastião Iberes Lopes Melo, num futuro próximo Magnífico Reitor desta Universidade, por ter contribuído muito para meu aprendizado e por ter aceitado participar desta banca.

À Professora Doutora Vera Lúcia Garcia Cardoso Tramonte, minha única professora da Graduação nesta banca, professora que jamais esquecerei por ter isso a única a me repreender por conversar em sala de aula (...) mas também por muito ter acrescentado a minha formação.

Um agradecimento especial ao Carminatti, que esteve presente em todos os momentos da realização deste trabalho, sempre disposto a ajudar.

Aos colegas de laboratório Giuliano, Alexandre, Carolina, Poliana, Juliana, Tony por terem contribuído em algumas etapas deste trabalho.

Um agradecimento carinhoso à amiga Lenise, que durante vários momentos, pacientemente, me auxiliou nesta pesquisa.

Também agradeço especialmente à minha grande amiga Lucieli, que dividindo Big Macs com batatas fritas e coca-light na madrugada, atravessou noites comigo na realização das dosagens e também pelo grande apoio em todos os momentos que sempre precisei.

Aos demais professores e colaboradores do CEFID, pelos ensinamentos proporcionados desde minha chegada no Centro, que lá se vão 12 anos...

Ao meu grande amor Nelson, que tive a grande felicidade de conhecer no início desta jornada e de quem jamais quero me distanciar. Agradeço pela sua compreensão e abdicação do pouco tempo que temos de convívio, em prol de realização deste trabalho, encorajando-me e incentivando-me todos os dias. Meus

afetivos agradecimentos ao responsável pela minha saúde afetiva, pois como disse Pablo Neruda... “E desde então, sou porque tu és... E desde então és, sou e somos... E por amor... Serei... Serás... Seremos...”.

Aos meus pais, pela sólida formação dada durante toda a minha vida, que me proporcionou a continuidade nos estudos até a chegada a este mestrado, meus eternos agradecimentos. Obrigada pelo apoio incondicional! Vocês sempre foram meu exemplo de vida!

Início e termino agradecendo a Deus por sempre me iluminar e me guiar... pois, embora às vezes eu tenha me distanciado Dele, tenho certeza de que Ele nunca se distanciou de mim...

Muito obrigada...

Mensagem

Um viajante ia caminhando em solo distante, as margens de um grande lago de águas cristalinas. Seu destino era a outra margem.

Suspirou profundamente enquanto tentava fixar o olhar no horizonte. A voz de um homem coberto de idade, um barqueiro, quebrou o silêncio momentâneo, oferecendo-se para transportá-lo.

O pequeno barco envelhecido, no qual a travessia seria realizada, era provido de dois remos de madeira de carvalho. Logo seus olhos perceberam o que pareciam ser letras em cada remo. Ao colocar os pés empoeirados dentro do barco, o viajante pode observar que se tratava de duas palavras, num deles estava entalhada a palavra ACREDITAR e no outro AGIR.

Não podendo conter a curiosidade, o viajante perguntou a razão daqueles nomes originais dados aos remos. O barqueiro respondeu pegando o remo chamado ACREDITAR e remando com toda força. O barco, então, começou a dar voltas sem sair do lugar em que estava. Em seguida, pegou o remo AGIR e remou com todo vigor. Novamente o barco girou em sentido oposto, sem ir adiante.

Finalmente, o velho barqueiro, segurando os dois remos, remou com eles simultaneamente e o barco, impulsionado por ambos os lados, navegou através das águas do lago chegando ao seu destino, à outra margem.

Então o barqueiro disse ao viajante:

- Esse porto se chama autoconfiança. Simultaneamente, é preciso ACREDITAR e também AGIR para que possamos alcançá-lo !

(Autor desconhecido)

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a relação entre a suplementação com vitaminas antioxidantes C e E e variação nas concentrações de biomarcadores de alteração muscular em atletas masculinos profissionais de voleibol. Fizeram parte do estudo 11 jogadores profissionais de voleibol, com idades entre 18 e 35 anos, os quais foram subdivididos em dois grupos experimentais: grupo 1 – suplementação de 750mg/dia de ácido ascórbico e grupo 2 – suplementação de 750mg/dia de α -tocoferol por 60 dias. Foram realizadas dosagens bioquímicas dos biomarcadores de lesão muscular creatino cinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade que foi determinado em um teste máximo. Estes procedimentos foram realizados antes e após 60 dias de suplementação. Com base nos resultados, foi verificado que o exercício pode aumentar a liberação de CK e o esperado é que mesmo após 12 horas de recuperação estes valores continuem aumentando, pois esta enzima pode ter um pico em 24 a 48 horas após a realização da atividade. A enzima LDH parece ser menos influenciada pela ação do exercício, embora as concentrações tendam a estar mais elevadas no final do exercício. O exercício também influencia a liberação de AST, que aumenta ao final da atividade, e tende a retornar a valores prévios após 12 horas de recuperação. Foi observado que no grupo suplementado com ácido ascórbico, a vitamina parece não exercer influência sobre a redução nas concentrações de CK, LDH, AST e ALT, pois as mesmas aumentaram em relação ao período pré-suplementação. No entanto, o grupo suplementado com α -tocoferol, apesar de apresentar aumento de CK, LDH e AST influenciados pela ação do exercício, estes valores apresentaram-se significativamente menores do que no período pré-suplementação. Além disso, o grupo suplementado com vitamina E, apresentou as concentrações de biomarcadores de lesão muscular menores do que no período pré-suplementação e, como estes parâmetros bioquímicos podem ser utilizados como indicadores de estresse durante protocolos de esforços predominantemente anaeróbios, pode-se dizer que a suplementação com vitamina E parece ter exercido um efeito protetor em relação a este estresse.

Palavras-chave: Exercício Físico. Biomarcadores de Lesão Muscular. Suplementação Vitamínica e Antioxidante.

ABSTRACT

The purpose of the study was to analyze the relation between the antioxidant supplementation and the variation in the concentrations of the biomarkers of muscular injury in professional volleyball athletes. 11 professional volleyball players had been part of the study, between the ages of 18 and 35 years, which have been subdivided in two experimental groups: group 1 – supplementation of 750mg/day of ascorbic acid and group 2 – supplementation of 750mg/day of α -tocopherol. Dosages had been carried through biochemists of the biomarkers of muscular injury before, immediately after, and 12 hours after a rectangular load test at 80% of the speed peak that was previously determined in a maximum test. These procedures were carried out before, and after 60 days of supplementation. On the basis of these results, it was verified that the exercise can increase the CK release and it is expected that even after 12 hours of recovery these values continue increasing, therefore this enzyme can have a peak up to 24 or 48 hours after the accomplishment of the activity. Enzyme LDH seems to be less influenced by the action of the exercise, even so the concentrations tends to be higher at the end of the exercise. The exercise also influences the AST release, which increases to the end of the activity, and tends to return to the previous value 12 hours after recovery. Still, from the results, it was observed that in the group supplemented with ascorbic acid, the vitamin seems not to have exerted an influence on the reduction in the concentrations of CK, LDH, AST and ALT, since they had increased in relation to the period pre-supplementation. Meanwhile, the group supplemented with α -tocopherol, besides presenting an increase of CK, LDH and AST as influenced by the action of the exercise, had also been present in significantly lesser amounts in the period pre-supplementation. Moreover, the group supplemented with vitamin E presented lower concentrations of biomarkers of muscular injury than during the period pre-supplementation and, as these biochemical parameters can be used as indications of stress during periods of predominantly anaerobic effort, the supplementation with vitamin E can be said to have exerted a protective effect in relation to this stress.

Keywords: Physical Exercise. Antioxidant Supplementation. Biomarkers of Muscular Injury.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Lesões por estrutura anatômica.....	30
Quadro 2 - Tipos de lesões mais freqüentes no voleibol.....	31
Quadro 3 - Redução do oxigênio a espécies reativas	36
Quadro 4 - Principais substâncias antioxidantes	51
Quadro 5 - Delineamento da Pesquisa	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variáveis morfológicas antes do início da suplementação	67
Tabela 2 - Variáveis morfológicas ao final do período de suplementação	67
Tabela 3 - Ingestão de nutrientes (via alimentos) antes e após o período de suplementação	67
Tabela 4 - Concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular, no período pré-suplementação do grupo 1.....	68
Tabela 5 - Concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular, no período pré-suplementação do grupo 2.....	69
Tabela 6 - Comportamento das concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular no período pós-suplementação do grupo suplementado com vitamina C.....	70
Tabela 7 - Comportamento das concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular no período pós-suplementação do grupo suplementado com vitamina E.	70
Tabela 8 - Concentrações médias dos biomarcadores de lesão muscular antes, após e 12 horas depois de um teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade nos períodos pré e pós-suplementação no grupo suplementado com vitamina C.....	71
Tabela 9 - Concentrações médias dos biomarcadores de lesão muscular antes, após e 12 horas depois de um teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade nos períodos pré e pós-suplementação no grupo suplementado com vitamina E	72

Tabela 10 - Comparação no comportamento das concentrações plasmáticas dos biomarcadores de lesão muscular entre os grupos antes do período de suplementação.....72

Tabela 11 - Comparação no comportamento das concentrações plasmáticas dos biomarcadores de lesão muscular entre os grupos após a suplementação.....73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Visualização do esquema do teste intermitente TCar.....	62
--	----

ABREVIATURAS E SIGLAS

- OH – Radical Hidroxil
- ALT – Alanina Amino Transferase
- AMP – Monofosfato de Adenosina
- AST – Aspartato Amino Transferase
- ATP – Trifosfato de Adenosina
- CAT – Catalase
- CK – Creatino Cinase
- DNA – Ácido Desoxirribonucléico
- EO – Estresse Oxidativo
- ERO – Espécie Reativa de Oxigênio
- FC – Frequência Cardíaca
- FCmax – Frequência Cardíaca Máxima
- GPx – Glutaciona Peroxidase
- GR – Glutaciona Redutase
- GST – Grupamento Sufidril Total
- H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio
- IMP – Inosina Monofosfato
- LDH – Lactato Desidrogenase
- NAD⁺ – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
- NADPH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato (reduzida)
- O₂^{•-} – Radical Ânion Superóxido
- PC – Creatina Fosfato
- PV – Pico de Velocidade
- PUFA – Ácido Graxo Polinsaturado
- RL – Radical Livre
- SOD – Superóxido Dismutase
- TBARS – Substâncias Reagentes ao Ácido Tiobarbitúrico
- VO₂ – Volume de Oxigênio Total Consumido

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE QUADROS.....	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
ABREVIATURAS E SIGLAS	xiv
1 INTRODUÇÃO	19
1.1 O problema e sua justificativa.....	19
1.2 Objetivos	22
1.2.1 Objetivo Geral	22
1.2.2 Objetivos Específicos	23
1.3 Hipóteses	23
1.3.1 Hipótese do estudo	23
1.4 Definição de termos	24
1.5 Definição de variáveis.....	26
1.5.1 Variável Independente.....	26
1.5.2 Variável Dependente	26
1.5.3 Variáveis Controle	27
1.6 Delimitação do estudo	28
1.7 Limitação do estudo.....	28
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	29
2.1 Características do voleibol.....	29
2.2 Lesões musculares	31

2.2.1 Fatores que podem dar origem às lesões musculares esqueléticas	33
2.2.1.1 Fadiga muscular como fator precursor de lesão muscular	34
2.2.1.2 Influência do íon cálcio no surgimento das lesões musculares esqueléticas	34
2.2.1.3 Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e as lesões músculo-esqueléticas ...	35
2.3 Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) – um dos possíveis mecanismos desencadeadores de lesão.....	35
2.4 Exercício físico como agente pró-oxidante	38
2.4.1 Produção mitocondrial de Espécies Reativas de Oxigênio	38
2.4.2 Produção citoplasmática de Espécies Reativas de Oxigênio	39
2.4.3 Produção de Espécies Reativas de Oxigênio favorecida pelos íons ferro e cobre	39
2.5 Biomarcadores de lesão muscular	41
2.5.1 Creatino Cinase (CK)	42
2.5.2 Lactato Desidrogenase (LDH)	44
2.5.3 Aspartato Amino Transferase (AST).....	45
2.5.4 Alanina Amino Transferase (ALT)	47
2.6 Relações entre exercício físico, estresse oxidativo e sistema enzimático antioxidante	48
2.7 Defesas antioxidantes.....	49
2.7.1 Defesas Endógenas	50
2.7.1.1 Superóxido Dismutase (SOD)	51
2.7.1.2 Catalase (CAT).....	52
2.7.1.3 Glutationa Peroxidase (GPx).....	52
2.7.2 Defesas Exógenas	53
2.7.2.1 Betacaroteno	53
2.7.2.2 Ácido ascórbico (ascorbato ou vitamina C)	53
2.7.2.3 Acetato de α -tocoferol (Vitamina E)	54
2.8 Histórico e novas perspectivas acerca das vitaminas.....	54
2.8.1. Vitaminas antioxidantes.....	55
3 MATERIAIS E MÉTODOS	59
3.1 Caracterização da pesquisa	59
3.2 Sujeitos da pesquisa.....	59
3.3 Técnicas e instrumentos	60

3.3.1 Entrevista	60
3.3.2 Avaliação antropométrica	61
3.3.3 Suplementação vitamínica	61
3.3.4 Teste máximo	61
3.3.5 Teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade.....	63
3.3.6. Dosagens de biomarcadores de lesão muscular.....	63
3.3.6.1 Coleta de sangue	63
3.3.6.2 Análise das enzimas biomarcadoras de lesão muscular.....	63
3.4 Coleta de dados.....	64
3.4.1 Período pré-suplementação	64
3.4.2 Período de suplementação.....	65
3.4.3. Período pós-suplementação.....	65
3.5 Tratamento dos dados	65
4 RESULTADOS.....	67
4.1 Caracterização dos sujeitos da pesquisa	67
4.2 Comportamento das concentrações plasmáticas dos biomarcadores de lesão muscular CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular nos períodos pré e pós-suplementação	68
4.3 Comparação nas concentrações dos biomarcadores de lesão muscular, antes, após e 12 horas após um teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade nos períodos pré e pós-suplementação nos grupos 1 e 2.....	71
4.4 Comparação no comportamento das concentrações plasmáticas dos biomarcadores de lesão muscular entre os grupos suplementados com vitamina C e vitamina E	72
5 DISCUSSÃO	74
5.1 Efeito do exercício e concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes do período de suplementação	75
5.2 Efeito do exercício e concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT após o período de suplementação.	78
5.3 Comparações nas concentrações CK, LDH, AST e ALT antes a após a suplementação com vitamina C e vitamina E.....	79

6 CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	98

1 INTRODUÇÃO

1.1 O PROBLEMA E SUA JUSTIFICATIVA

Estima-se que 800 milhões de pessoas, em mais de 130 países praticam o voleibol, incluindo homens e mulheres de todas as idades em diferentes níveis de habilidades (BRINER e BENJAMIN, 1999). Nas últimas décadas, houve um considerável aumento no interesse da prática e divulgação desta modalidade, motivada talvez, pelas recentes e importantes conquistas, além deste esporte ter passado por uma série de modificações táticas, técnicas, físicas, administrativas e de regras (MANSOLDO e FARINA, 2006). No Brasil, estas modificações incentivaram as empresas a investir no esporte, tornando-o mais profissional (MALTA e NASCIMENTO, 1995).

No entanto, a profissionalização do voleibol trouxe ao atleta uma série de exigências, e por muitas vezes a necessidade de cumprir tabelas com campeonatos simultâneos, levando a longos períodos de competição, com tempo de recuperação muitas vezes insuficientes, que podem acarretar desde a queda de rendimento até graves lesões por sobrecarga (CHIAPPA, 2001). Adicionalmente, para a prática do voleibol, faz-se necessária a utilização de uma variedade de manobras que são peculiares ao esporte, onde cada postura pode representar um risco de lesão (BRINER e BENJAMIN, 1999).

As lesões musculares podem ser entendidas como quaisquer alterações morfológicas e/ou histoquímicas, que promovam um mau funcionamento do músculo (DUARTE, 1993). Conseqüentemente, o afastamento de atletas profissionais do treinamento ou das competições devido à presença de lesões musculares é bastante freqüente, podendo prejudicar o rendimento de toda a equipe e ocasionando gastos para o clube.

Entre os fatores que contribuem para o surgimento de lesões nas fibras musculares estriadas esqueléticas, pode-se citar a intensidade do treinamento, a presença de traumas, fadiga muscular e o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (VOLFINGER *et al.*, 1994).

Vários autores já relataram a ocorrência de lesões após esforço intenso: diretamente, através de alterações histológicas no sarcômero, ou indiretamente, pela quantificação de proteínas musculares específicas no plasma, as quais são designadas como biomarcadores de lesão muscular. Dentre estes, destacam-se: a mioglobina, a enzima lactato desidrogenase (LDH) e principalmente a enzima creatino cinase (CK) (JACOBS *et al.*, 1987; APPLE *et al.*, 1988; VOLFINGER *et al.*, 1994). Ainda, na avaliação de lesão muscular deve ser verificada a atividade das enzimas alanina amino transferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST) (WESTGARD *et al.*, 1981).

A liberação de proteínas musculares é tida como uma evidência de dano muscular, pois normalmente estas são incapazes de atravessar as membranas celulares. Desta forma, considera-se que a liberação de proteínas musculares, via vasos linfáticos, reflete importantes alterações ocorridas na estrutura das membranas, tornando-as mais permeáveis a grandes moléculas. De maneira geral, durante os períodos competitivos, os atletas apresentam concentrações elevadas de biomarcadores de lesão muscular, em conseqüência de sobrecargas e agressões sofridas durante a rotina de jogos e treinos (MANNRICH *et al.*, 2005b). Por outro lado, este aumento nos níveis de proteínas musculares no plasma pode ser o resultado de alterações da membrana da célula muscular, possivelmente devido a reações de hipoxia e isquemia muscular decorrentes do exercício exaustivo, bem como da ação do aumento de cálcio intracelular ativando proteases dependentes de cálcio (MOREAU *et al.*, 1995). Além disso, evidências experimentais ressaltam que a elevação de CK sanguínea não necessariamente reflete quantia de lesão histológica, podendo sugerir mudanças em permeabilidade da membrana celular (VAN DER MEULEN *et al.*, 1991).

De acordo com Pyne (1994), existem duas hipóteses para explicar a lesão muscular induzida pelo exercício físico. A primeira argumenta que o extravasamento de proteínas musculares para o plasma deve-se principalmente ao estresse mecânico, provocado pelo processo de contração muscular. Assim, o ciclo contração-relaxamento

executado pelas miofibrilas, ocasionando contínuo alongamento e encurtamento do sarcômero, seria suficiente para alterar a estrutura da membrana celular. A outra hipótese propõe que esta perda de integridade deve-se, sobretudo, a um estresse metabólico, consequência de um ataque de ERO ao sarcolema, ocasionando um processo de lesão oxidativa na membrana (PYNE, 1994; FRANKIEWICZ-JOZKO, 1996).

Há evidências na literatura que o estresse oxidativo (EO) induzido pelo exercício intenso contribui com os mecanismos de lesão celular (DUARTE, 1993). Ainda, a maior utilização das fibras musculares durante o exercício físico também as tornam mais susceptíveis às lesões (CLARKSON e TREMBLAY, 1988). De fato, já está bem documentado em estudos com várias espécies animais que atividades exercidas acima da intensidade habitual de esforço induzem níveis de alteração ou lesão muscular elevados. Além disso, tem sido muito discutido que a prática de exercícios físicos predominantemente aeróbios provoca aumento do fluxo de oxigênio na mitocôndria, e que aproximadamente dois a cinco por cento deste oxigênio não são completamente reduzidos, formando assim ERO, que causam alterações das membranas celulares (SJÖDIN, WESLING e APPLE, 1990). Entretanto, apesar do exercício anaeróbio ser executado independente do aporte de oxigênio, a produção excessiva de ERO tem sido verificada durante esse tipo de esforço (CHILDS *et al*, 2001). Como resultado, ocorrem lesões nas fibras musculares, acompanhadas por um processo inflamatório, o que conduz a uma redução da função muscular com liberação de enzimas musculares, alterações histológicas evidentes e dor muscular (DEKKERS, DOORMEN e KEMPER, 1996). Contudo, poucos são os estudos que têm investigado a associação entre EO e lesões musculares em esportes intermitentes. Mas, parece existir um consenso de que exercícios realizados em alta intensidade (com predomínio do metabolismo anaeróbio) intercalados por pausas curtas (com predomínio do metabolismo aeróbio) possam simular um quadro de isquemia-reperfusão (anoxia-reoxigenação), o qual é conhecido como grande gerador de ERO.

Por outro lado, nas últimas décadas, têm-se discutido bastante sobre a suplementação de vitaminas como forma de tratamento antioxidante, principalmente as vitaminas C e E. Já está cientificamente comprovado que as vitaminas são compostos

orgânicos que podem atuar como antioxidantes modulando o balanço oxidativo (CHILDS *et al*, 2001). Considerando que o ácido ascórbico (vitamina C) e o acetato de α -tocoferol (vitamina E) são vitaminas antioxidantes intracelulares responsáveis pela interceptação, reparo e restauração dos danos provocados pelas ERO, o acompanhamento nutricional dos atletas é de fundamental importância para garantir que os mesmos estejam consumindo quantidades adequadas destas vitaminas. Adicionalmente, discute-se sobre a eficácia da ingestão de quantidades elevadas de vitaminas para atender demandas além das suas funções nutricionais, com intuito de prevenir e tratar lesões musculares provocadas pelo exercício físico (HATCKOCK, 1997). Neste sentido, a suplementação vitamínica acompanhada de uma rotina laboratorial para avaliação de parâmetros metabólicos indicadores de lesão tecidual durante as fases de treinamento e competição pode auxiliar no fornecimento de uma estimativa da capacidade de assimilação de esforços intensos pelo atleta, podendo prevenir assim o desenvolvimento de lesões musculares.

Por fim, considerando-se que o estresse mecânico no voleibol pode ser mais facilmente controlado pelo treinamento e que, ainda assim, muitos atletas podem estar susceptíveis a lesões decorrentes do estresse metabólico, indaga-se: qual a influência da suplementação com vitaminas C e E sobre os níveis de biomarcadores de lesão muscular em atletas profissionais de voleibol, durante uma temporada competitiva?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da suplementação com vitaminas antioxidantes C e E na concentração plasmática dos biomarcadores de alteração muscular, em atletas profissionais de voleibol, durante uma temporada competitiva.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar as concentrações plasmáticas dos biomarcadores de lesão muscular CK, LDH, AST e ALT em atletas profissionais de voleibol antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular a 80% pico de velocidade no início de uma temporada competitiva.
- Verificar as concentrações plasmáticas dos biomarcadores de lesão muscular (CK, LDH, AST e ALT), em atletas profissionais de voleibol, suplementados com ácido ascórbico e α -tocoferol antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular a 80% pico de velocidade no início de uma temporada competitiva.
- Comparar as concentrações dos biomarcadores de lesão muscular (CK, LDH, AST e ALT), antes, imediatamente após e 12 horas após um teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade nos períodos pré e pós-suplementação com ácido ascórbico e α -tocoferol.

1.3 HIPÓTESES

1.3.1 Hipótese do estudo

Existe associação entre a suplementação com vitaminas antioxidantes C e E e as concentrações das enzimas biomarcadoras de lesão muscular, em atletas profissionais de voleibol antes, imediatamente após e na recuperação de um teste de carga retangular.

1.4 DEFINIÇÃO DE TERMOS

Antioxidantes - Substâncias orgânicas que, mesmo presentes em baixas concentrações, são capazes de retardar ou inibir as taxas de oxidação (CLARKSON e THOMPSON, 2000).

Biomarcadores de lesão muscular - São enzimas circulantes ou plasmáticas que permitem a verificação indireta de alterações teciduais, através de dosagens bioquímicas (HORTOBÁGYI *et al.*, 1998). A dosagem destas enzimas no sangue serve como indicador de lesão muscular (NOSAKA e NEWTON, 2002).

Espécies Reativas de Oxigênio - Átomos, íons ou moléculas que contêm oxigênio com um elétron não pareado em sua órbita externa. São caracterizadas por grande instabilidade e por isso elevada reatividade e possuem vida curta (SMOLKA *et al.*, 2000).

Estresse oxidativo - Desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares por Espécies Reativas de Oxigênio à estrutura das biomoléculas DNA, lipídios, carboidratos e proteínas, além de outros componentes celulares (ALESSIO, 1993).

Radicais livres - Espécies químicas independentes, que possuem um ou mais elétrons desemparelhados, o que os torna extremamente reativos (CRISWELL *et al.*, 1982).

Ácido ascórbico (Vitamina C) - Vitamina hidrossolúvel. Considerado o mais efetivo dos antioxidantes, reage diretamente com o oxigênio simples, radical hidroxila e radical superóxido, além de regenerar a vitamina E, sendo encontrado em frutas cítricas e vegetais (CARR e FREI, 1999).

Acetato de α -tocoferol (Vitamina E) - Vitamina lipossolúvel. Antioxidante dietético capaz de proteger os tecidos adiposos do ataque de RL, como por exemplo, a formação

de radicais peróxidos a partir de ácidos graxos poliinsaturados nas membranas fosfolipídicas (HATCKOCK, 1997).

Lesão Muscular - Qualquer alteração que promova um mau funcionamento do músculo seja ela morfológica ou histoquímica (FAULKNER, BROOKS e OPITECK, 1993; DUARTE, 1993).

1.5 DEFINIÇÃO DE VARIÁVEIS

1.5.1 Variável Independente

Suplementação com ácido ascórbico e suplementação com α -tocoferol

Conceitualmente, a palavra suplemento originada do latim “*supplementu*”, é um substantivo masculino que tem como significado: 1. o que serve para suprir, suprimento; 2. o que se dá a mais: suplemento salarial; 3. parte que se adiciona a um todo para ampliá-lo, esclarecê-lo ou aperfeiçoá-lo (FERREIRA, 1986). Operacionalmente será realizada suplementação com ácido ascórbico e com α -tocoferol em dois grupos distintos de atletas. A suplementação de vitamina C foi realizada com 750 mg de ácido ascórbico em dose única diária durante um período de 60 dias. A suplementação com vitamina E foi feita com 750 mg de α -tocoferol em dose única diária durante um período de 60 dias.

1.5.2 Variável Dependente

Enzimas biomarcadoras de lesão tecidual

Conceitualmente, são enzimas plasmáticas que auxiliam o diagnóstico de lesões teciduais indiretamente, através de dosagens bioquímicas (HORTOBÁGYI *et al.*, 1998). Operacionalmente serão mensuradas as enzimas a creatino cinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT), através de reações enzimáticas colorimétricas, com o auxílio de kits específicos para cada análise. A dosagem destas enzimas no sangue serve como indicador de lesão tecidual (NOSAKA e NEWTON, 2002). As concentrações das enzimas serão expressas em UI e para limite de normalidade serão considerados: CK \leq 170 UI, LDH \geq 225 e \leq 450 UI, AST \leq 37 UI e ALT \leq 42 UI.

1.5.3 Variáveis Controle

Sexo

Conceitualmente, sexo é a conformação particular que distingue o macho da fêmea, nos animais e nos vegetais, atribuindo-lhes um papel determinado na geração e conferindo-lhes certas características distintivas (FERREIRA, 1986). Operacionalmente serão avaliados indivíduos do sexo masculino, que serão selecionados através da verificação do documento de identidade fornecido pelo clube.

Modalidade Esportiva - Voleibol

Conceitualmente, a palavra voleibol tem origem no inglês *volley-ball*. É um substantivo masculino. Pode ser definido como: jogo entre duas equipes de seis jogadores, separadas por uma rede, no qual se manda por cima dessa rede uma bola, batendo-lhe com a mão ou com o punho (FERREIRA, 1986). Operacionalmente, atletas de voleibol são indivíduos que realizam uma rotina de exercícios sistematizados relacionados à modalidade de voleibol, que são filiados a um clube e que tem o voleibol como atividade profissional.

Período de treinamento

Conceitualmente um período é o tempo transcorrido entre duas datas ou dois fatos mais ou menos marcantes (FERREIRA, 1986) e treinamento é o ato de exercitar-se para jogos desportivos, ou para outros fins (FERREIRA, 1986). Operacionalmente, os atletas serão avaliados no início de um período competitivo que será a fase inicial da Superliga Nacional 2006/2007.

Idade

Idade é uma palavra originada do latim *aetate*; é um substantivo feminino, o número de anos de alguém ou de algo (FERREIRA, 1986). Operacionalmente serão avaliados indivíduos jovens, com idades entre 18 e 35 anos na ocasião do estudo que será verificado através da ficha do atleta fornecida pelo clube.

1.6 DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

O presente estudo foi delimitado à verificação, através de análises bioquímicas, da influência da suplementação vitamínica na concentração plasmática de biomarcadores de lesão muscular CK, LDH, AST e ALT em atletas profissionais de voleibol de uma equipe de Florianópolis – SC com idade entre 18 e 35 anos, no período de outubro a dezembro de 2006.

1.7 LIMITAÇÃO DO ESTUDO

A principal limitação do estudo dá-se pela impossibilidade de controle da ingestão das vitaminas pelos atletas segundo as indicações fornecidas, embora estes sejam orientados neste sentido. Outra limitação importante é a impossibilidade da existência de um grupo controle ou placebo por se tratarem de atletas profissionais durante a principal competição do ano.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CARACTERÍSTICAS DO VOLEIBOL

O voleibol vem ganhando maior destaque a cada ano, sendo atualmente o segundo esporte competitivo mais praticado no Brasil. O aumento nas conquistas das seleções brasileiras e o patrocínio de grandes empresas privadas fizeram com que sua popularidade crescesse de maneira considerável na última década. Contudo, com o aumento no número dos praticantes, ocorre também o aumento da profissionalização e um aumento na incidência de lesões neste esporte (PEDRINELLI e SAITO, 2002).

O voleibol é considerado um esporte aeróbio-anaeróbio alternado, com ênfase na fase alática, pois o estudo dos movimentos dos atletas demonstra um grande número de atividades de curta duração com freqüentes trocas de intensidade. Portanto, fisiologicamente o voleibol exige energia apropriada pelos sistemas aeróbios e anaeróbios, além de força, resistência muscular e flexibilidade, caracterizando esta potência desportiva, como rendimento rápido e explosivo com uma menor fadiga (CHIAPPA, 2001; FOSS e KETEYIAN, 2000).

Com relação ao metabolismo anaeróbio defende-se a predominância de 80% do sistema ATP-CP. No entanto, não existe alta intensidade sem a presença do oxigênio, já que a recuperação e regeneração da energia ocorrem de forma rápida. As ações do voleibol que requerem o metabolismo de alta intensidade são saltos, rebotes, bloqueios, cortadas, ataques e contra-ataques (CHIAPPA, 2001).

Uma das características marcantes do esporte é o mínimo contato direto entre os atletas de equipes opostas. Tais contatos ocorrem entre as mãos e os pés daqueles jogadores mais próximos à rede e, raramente, entre outras partes do corpo em eventos acidentais. A maioria das lesões são, portanto, atribuídas aos movimentos vigorosos realizados pelos braços, aos saltos e aos "mergulhos" durante os treinos e os jogos (MELO, 2001). Porém, nos atletas de alto nível, a grande solicitação dos treinos e jogos

provocam a ativação de diferentes arcos gama dos músculos posturais concernidos e com eles a diminuição do rendimento, os enrijecimentos, câibras, dores excessivas após os exercícios, tendinites e distensões, podendo ser freqüente o surgimento de lesões (CARVALHO, 1992; CHIAPPA, 2001). Estas lesões podem ser provocadas pelas repetições de gestos, acelerações, deslocamentos para bloqueio e cortadas, que são os principais fundamentos deste esporte. Por este motivo o voleibol é uma atividade esportiva de grande variabilidade de lesões (CARVALHO, 1992; PEDRINELLI e SAITO, 2002).

A epidemiologia das lesões, de acordo com a Tomada de Protocolo de Ferreti (1996), por estruturas anatômicas e por tipo de lesões mais freqüentes no voleibol podem ser visualizadas nos quadros seguintes (CARVALHO, 1992):

Estrutura anatômica	Porcentagem (%)
Dedos (mãos)	46,13
Cotovelo	2,13
Ombro	29,8
Pulso	14,2
Dedos (pés)	12,76
Joelho	7,8
Tornozelo / Pé	4,96
Tronco	18,39
Coluna	15,2
Lesão Muscular	14,9
Lesão por Estresse	0,91

Quadro 1 – Percentual de lesões por estrutura anatômica em jogadores de voleibol

Fonte: FERRETI (1996).

Por conseguinte, as lesões no voleibol são bastante diversificadas quanto à incidência, local anatômico, comprometimento, modificações biomecânicas e outros. Neste sentido, no voleibol deve haver grande preocupação a respeito das técnicas de treinamento esportivo para prevenir o desenvolvimento de lesões.

Tipo de lesão	Porcentagem (%)
Entorse de tornozelo	13,0 - 25,0
Tendinopatia patelar/condromalácia patelar	3,0 - 10,0
Lombalgia	6,1 - 7,8
Entorse de joelho	3,6 - 4,61
Entorse / luxação de falanges	2,7 - 17,09
Tendinite aquiliana	3,0 - 3,9
Fascite plantar	1,5 - 3,8
Hérnia / protusão discal lombar	1,0 - 2,3
Rotura meniscal	1,0 - 2,45

Quadro 2 - Tipos de lesões mais freqüentes no voleibol

Fonte: FERRETI (1996).

2.2 LESÕES MUSCULARES

As lesões musculares podem ser entendidas como qualquer alteração que promova um mau funcionamento do músculo, seja ela morfológica ou histoquímica (FAULKNER, BROOKS e OPITECK, 1993; DUARTE, 1993). O primeiro nível de lesão é denominado microtraumatismo, que é um estresse local que não demonstra sintomas. Se essa lesão passa a ocorrer constantemente (efeito somativo), os sinais de dano muscular começam a aparecer. As lesões deste tipo são denominadas, de forma geral, lesões por *overuse* (MATSUDO, 1990).

As lesões musculares ou distensões musculares são aquelas onde há ruptura de fibras musculares, na junção músculo-tendão, no tendão ou na inserção óssea de uma unidade músculo-tendínea (PINTO e CASTILLO, 1998). Existem várias classificações para estabelecer o nível das lesões musculares. Levando em consideração o grau de comprometimento das fibras musculares, elas podem ser classificadas como: lesão de grau 1, onde há ruptura mínima das fibras; lesão de grau 2, onde ocorre laceração muscular com significativa hemorragia e lesão de grau 3, como sendo aquela onde ocorre completa perda de função e continuidade da maior parte ou de todo o músculo (PINTO e CASTILLO, 1998). O nível de uma lesão é determinado pela duração e

intensidade do exercício. Desta forma, atividades de resistência ou de explosão produzem vários níveis de resposta celular e de lesão muscular (DAL PAI, 1994).

O maior risco de lesão muscular ocorre durante a contração excêntrica, pois, neste tipo de ação, realiza-se trabalho de força e de alongamento ao mesmo tempo, aumentando, assim, o estresse sobre os tecidos (GARRET Jr, 1996). As lesões ocorrem porque as ações de alongamento provocam uma extensão além do normal de alguns sarcômeros, causando, desta forma, danos aos mesmos (CLARKSON, 1997).

Além disso, o exercício físico intenso é acompanhado pela produção de radicais livres que causam alterações das membranas celulares. Isto pode provocar como resultado uma lesão de fibras musculares, acompanhada por um processo inflamatório, o que conduz a uma redução da função muscular com liberação de enzimas musculares, alterações histológicas evidentes e dor muscular, como fator funcional limitante (DEKKERS *et al.*, 1996). Ainda, o exercício físico exerce influência sobre o balanço entre ataque oxidativo e os mecanismos de defesa antioxidante. À medida que aumenta a intensidade do exercício, ocorre um aumento na produção de ERO, associada ao metabolismo energético acelerado. Essas espécies podem contribuir para danos tissulares e celulares, prejudicando o desempenho do atleta.

Concomitantemente, a literatura aponta que níveis elevados de EO parecem estar relacionados ao início do processo de síndrome do treinamento excessivo, caracterizado por alta fadigabilidade e alterações metabólicas que, por sua vez, podem contribuir para um aumento na incidência de lesão muscular (ARMSTRONG, 1984; BALNAVE e THOMPSON, 1993; JOHNSON e THIESE, 1992; KIBLER, CHANDLER e STRACENER, 1992; KUIPERS, 1998; DUARTE, CARVALHO e BASTOS, 1994; LEHMANN *et al.*, 1998; TENENBAUM, 1996; TIIDUS, 1998). Porém, poucos são os estudos na literatura que têm investigado a associação entre EO e lesões musculares em esportes intermitentes. Mas parece existir um consenso de que exercícios realizados em alta intensidade (com predomínio do metabolismo anaeróbio) e intercalados por pausas curtas (com predomínio do metabolismo aeróbio) possam simular um quadro de isquemia-reperfusão (anoxia-reoxigenação), o qual é conhecido como grande gerador de ERO (SJÖDIN, WESLING e APPLE, 1990).

Por sua vez, a maior utilização das fibras musculares durante o exercício físico também as torna mais susceptíveis a lesões. De fato, já está bem documentado em várias espécies animais que atividades exercidas acima da intensidade habitual de esforço induzem níveis de alteração ou lesão musculares elevadas (CLARKSON e TREMBLAY, 1988). Vários autores já relataram a ocorrência de tais lesões após esforço intenso: diretamente, através de alterações histológicas no sarcômero, ou indiretamente, pela quantificação no plasma de proteínas musculares específicas, como mioglobina, a enzima LDH e principalmente a enzima CK (APPLE, HELLSTEN e CLARKSON, 1988; JACOBS *et al.*, 1987).

Para entender as alterações morfológicas que ocorrem devido às lesões, é necessário, então, compreender primeiramente os fatores que condicionam tais lesões, para, a partir daí, observar as mudanças estruturais que as fibras musculares podem apresentar.

2.2.1 Fatores que podem dar origem às lesões musculares esqueléticas

Embora não se conheçam com clareza os mecanismos que podem proporcionar as lesões musculares, possivelmente estas estão relacionadas com as concentrações dos íons cálcio e com a própria mecânica do movimento. De qualquer forma, as lesões musculares esqueléticas (alterações morfofuncionais) são uma constante na vida dos indivíduos que realizam alguma atividade física e podem ser mais freqüentes naquelas atividades, onde há um grande número de ações excêntricas (DUARTE, 1993) como ocorre no voleibol. Nesse tipo de exercícios há aumento da tensão muscular e a realização do movimento de alongamento do músculo (MARQUES, 2000). Essas lesões podem ser variavelmente classificadas, levando em consideração o grau de comprometimento das fibras musculares.

Ainda assim, várias causas são apontadas como possíveis fatores responsáveis pelas lesões nas fibras musculares estriadas esqueléticas. Alguns estudos ressaltam a influência da fadiga muscular, do íon cálcio, das ERO e da alimentação.

2.2.1.1 Fadiga muscular como fator precursor de lesão muscular

A fadiga muscular pode ocorrer devido às falhas do nervo motor, da junção neuromuscular, do sistema nervoso central e também do mecanismo contrátil. A fadiga do mecanismo contrátil se dá pela depleção das reservas de Adenosina Trifosfato (ATP) e Creatina Fosfato (CP), depleção das reservas de glicogênio muscular e pelo acúmulo de ácido láctico (FOX *et al.*, 1991).

A fadiga muscular pode alterar o bom funcionamento muscular, devido ao esgotamento de mediadores em vários níveis, podendo estabelecer um desequilíbrio muscular, favorecendo o surgimento de lesões (FITTS, 1996). Além disso, durante a instauração da fadiga muscular, a glicose está diminuída, o músculo, que normalmente é alcalino, apresenta acúmulo de produtos ácidos; a circulação sanguínea está diminuída e o oxigênio insuficiente não é o bastante para neutralizar substâncias tóxicas acumuladas (LOPES *et al.*, 1993).

2.2.1.2 Influência do íon cálcio no surgimento das lesões musculares esqueléticas

Nas células em geral verifica-se a ocorrência de aproximadamente 70 a 80% de água, 10 a 20% de proteínas, 2% de lipídios, 1% de carboidratos e vários íons, principalmente potássio, magnésio, fosfato, sulfato, bicarbonato e pequenas quantidades dos íons sódio, cloro e cálcio (GUYTON e HALL, 1996). Ao contrário do que ocorre no meio intracelular, onde existe aproximadamente 10^{-7} mM de Ca^{2+} , o meio extracelular possui grandes quantidades deste íon, cerca de 1-2 mM. Quando o Ca^{2+} é liberado no sarcoplasma, desencadeia diversos processos biológicos, uma vez que atinge proteínas ligadoras de cálcio que podem interagir com as chamadas proteínas-alvo, modificando-as em sua atividade (GUYTON e HALL, 1996; STRYER, 1992). As lesões musculares e morte celular ocorrem devido à quebra da homeostase celular ao íon Ca^{2+} , ou seja, ao mau funcionamento dos mecanismos responsáveis por manterem baixas as concentrações deste íon, no interior da célula (DUARTE, 1993). A tensão provocada pelo exercício físico, ativa os canais de cálcio da membrana, facilitando a penetração deste no interior das fibras musculares (CLARKSON, 1997).

2.2.1.3 Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e as lesões músculo-esqueléticas

As ERO são definidas como qualquer espécie de existência independente que contém um ou mais elétrons desemparelhados. São altamente reativas e instáveis, possuindo vida curta (HALLIWELL, 1994; MAXWELL, 1995). A formação destas moléculas ocorre naturalmente no organismo de todos os seres vivos, devido à exposição ao oxigênio molecular. Os efeitos dos prejuízos causados pelo oxigênio variam de acordo com o organismo estudado, idade, estado fisiológico e dieta (HALLIWELL, 1994).

As ERO são produzidas na membrana citoplasmática, no retículo endoplasmático, nos lisossomos, nas mitocôndrias, nos peroxissomas e no citosol. Sua produção é proporcional à quantidade de oxigênio consumida pelas mitocôndrias, num certo tempo e, conseqüentemente, aumenta durante uma atividade física, o que provoca um desequilíbrio de ERO, causando um EO (DUARTE, 1993). Estes compostos podem modificar proteínas e ácidos nucléicos, assim como alterar o funcionamento e a estrutura das membranas celulares, devido à peroxidação lipídica, podendo provocar lesões celulares (DUARTE, 1993). O EO ocorre então, devido ao predomínio de pro-oxidantes, em relação às trocas antioxidantes (PRYOR e GODBER, 1991).

2.3 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ERO) – UM DOS POSSÍVEIS MECANISMOS DESENCADEADORES DE LESÃO

Dentre os fatores citados anteriormente, destaca-se a formação de ERO como um dos principais mecanismos relacionados ao surgimento de lesões musculares, devido à alta produção de EROs ser responsável por várias ações deletérias, como: aumento nos níveis de peroxidação de lipídios de membranas (ALESSIO, 1993), aumento na carbonilação de proteínas e até danos ao DNA intracelular (RADAK *et al.*, 1999). Estas alterações prejudicam o metabolismo intracelular, comprometendo a eficiência do exercício.

Conforme já mencionado, Radicais Livres (RL) são espécies químicas independentes, que possuem um ou mais elétrons desemparelhados, o que os torna extremamente reativos (CRISWELL *et al.*, 1993). Os organismos aeróbios derivam o ATP (trifosfato de adenosina) da redução completa do O₂ por quatro elétrons, através do transporte mitocondrial de elétrons. Aproximadamente 98% de todo o oxigênio consumido pelas células entram nas mitocôndrias, onde são reduzidos pela citocromo oxidase. Entretanto, o oxigênio pode receber menos de quatro elétrons e formar ERO. Isto implica em uma grande instabilidade e, freqüentemente, elevada reatividade. A membrana interna mitocondrial reduz o oxigênio à água pela adição de uma transferência seqüencial de quatro elétrons. Isto envolve um mecanismo em que as moléculas de oxigênio sofrem redução, ganhando elétrons e subseqüentemente formando fragmentos moleculares com elétrons desemparelhados e uma alta reatividade química (SINATRA e DEMARCO, 1995). A produção de RL pelos organismos representa, portanto, um processo fisiológico.

Os RL são produzidos por modificações químicas de proteínas, lipídios, carboidratos e nucleotídeos, resultando em uma variedade de conseqüências biológicas, incluindo lesão muscular, mutação gênica, carcinogênese, comprometimento do sistema imunológico, doenças e morte celular (STOHS, 1996). A produção aumentada das EROs ou o desequilíbrio entre a disponibilidade dos antioxidantes para neutralizar estas espécies podem conduzir ao chamado EO (FRIDÉN, SJOSTROM, EKBLUM, 1983; STOHS, 1996). As ERO são constantemente formadas no organismo humano, tal como ocorre, por exemplo, durante a fagocitose realizada pelos neutrófilos, monócitos e macrófagos, no combate a microorganismos invasores (Quadro 3) (SAXTON, DONNELLY e ROPER, 1994).

Reação química	Tipo de radical
$O_2 + \bar{e} \rightarrow O_2^- \bullet$	Radical superóxido
$O_2^- \bullet + H_2O \rightarrow HO_2^- \bullet + OH$	Radical hidroperoxil
$HO_2^- \bullet + \bar{e} + H \rightarrow H_2O_2$	Peróxido de hidrogênio
$H_2O_2 + \bar{e} \rightarrow \bullet OH + OH^-$	Radical hidroxila

Quadro 3 - Redução do oxigênio a espécies reativas (adaptado de SAXTON, DONNELLY e ROPER, 1994)

Existem EROs muito prejudiciais, tais como o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), que reagem indiscriminadamente com a maioria dos compostos orgânicos essenciais à integridade e função dos organismos vivos – as biomoléculas - exercendo efeitos biológicos prejudiciais (LEHNINGER, NELSON e COX, 1998). Os RL podem atacar todas as principais classes de biomoléculas, sendo os lipídeos os mais suscetíveis. Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) das membranas celulares são rapidamente atacados por radicais oxidantes. A destruição oxidativa dos PUFA, conhecida como peroxidação lipídica, é bastante lesiva por ser uma reação de autopropagação na membrana (SAXTON, DONNELLY e ROPER, 1994).

Tanto o treinamento físico quanto, as competições, independente da modalidade física analisada, envolvem um aumento na produção de ERO. Estas incluem um amplo espectro de espécies radicalares, como o radical ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), e não radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O caminho para a formação de ERO começa geralmente com a redução monoelétrica do O_2 , com formação do radical ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$). Tendo em vista o aumento na demanda energética e consumo de O_2 pelo exercício físico, o $\text{O}_2^{\bullet-}$ pode ser formado nos músculos esqueléticos através de um aumento no extravasamento de elétrons pela cadeia respiratória mitocondrial, por enzimas como xantina oxidase, presente no endotélio de todos os tecidos, inclusive músculos esqueléticos, pelas enzimas NADPH oxidase e citocromo P450 oxidase (JENKINS e GOLDFARB, 1993). Como toda espécie radicalar é bastante instável, estas constituem oxidantes potentes que atacam alvos celulares com o objetivo de se estabilizar. A consequência disto é a oxidação dos fosfolipídeos de membranas celulares e subcelulares, DNA e proteínas. Quando o aumento na produção de ERO não é acompanhado por um aumento na capacidade de defesa do sistema antioxidante do organismo, estabelece-se o EO (JENKINS e GOLDFARB, 1993).

O EO é dito aumentado em um sistema quando a produção de ERO aumenta e/ou os mecanismos antioxidantes estão prejudicados (THOMPSON e GODIN, 1995).

2.4 EXERCÍCIO FÍSICO COMO AGENTE PRÓ-OXIDANTE

Na atividade física intensa há um aumento de 10 a 20 vezes no consumo total de oxigênio do organismo e um aumento de 100 a 200 vezes na captação de oxigênio pelo tecido muscular (SAXTON, DONNELLY e ROPER, 1994), favorecendo o aumento da produção de EROs. As modalidades esportivas que obtêm energia através do metabolismo aeróbio apresentam, portanto, mais facilidade de promover a liberação dessas substâncias em comparação com aquelas que obtêm energia através do metabolismo anaeróbio. Com isso os atletas ligados a modalidades aeróbias sofrem mais as conseqüências da presença de ERO (HALLIWELL, 1994).

O exercício físico intenso pode ativar três principais vias de formação de ERO: produção mitocondrial, produção citoplasmática e produção favorecida pelos íons ferro e cobre (COMPORTI *et al.*, 2002).

2.4.1 Produção mitocondrial de Espécies Reativas de Oxigênio

Nos organismos aeróbios, o oxigênio consumido é reduzido à água na mitocôndria. A enzima catalisadora desta reação é a citocromo oxidase, a qual impede a produção elevada de espécies reativas de oxigênio nas mitocôndrias das células. No entanto, de 2% a 5% do oxigênio consumido pelos organismos gera normalmente EROs nestas organelas com a formação de $O_2^{\cdot -}$ e de H_2O_2 . (SAXTON, DONNELLY e ROPER, 1994).

Várias evidências indicam que ocorre elevação na produção mitocondrial de EROs no organismo durante o exercício físico. Uma delas é o aumento de duas a quatro vezes na atividade das enzimas reguladoras (citrate sintetase, isocitrato desidrogenase e oxoglutarato desidrogenase) do Ciclo de Krebs no músculo esquelético, como conseqüência do exercício físico e treinamento de resistência aeróbia. A elevação acentuada da atividade destas enzimas é consistente com o metabolismo mitocondrial ativado nesta situação (LEHNINGER, NELSON e COX, 1998).

2.4.2 Produção citoplasmática de Espécies Reativas de Oxigênio

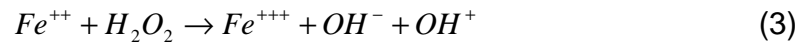
Durante o exercício físico intenso ocorre elevação da atividade do ciclo de degradação das purinas. Neste ciclo, a adenosina monofosfato (AMP) é desaminada, pela enzima adenilato desaminase, à inosina monofosfato (IMP) que se acumula no músculo esquelético. Como a IMP não se difunde rapidamente do músculo esquelético durante o exercício intenso, o seu acúmulo pode levá-la a uma via secundária de metabolização, ocasionando a formação de hipoxantina, xantina, ácido úrico, oxiradicais e peróxido de hidrogênio, produtos finais da degradação de adeninas (FRIDÉN, SJOSTROM e EKBLÖM, 1983).

Na presença de oxigênio molecular, a enzima xantina oxidase catalisa a oxidação da hipoxantina à xantina e esta a ácido úrico. Em condições de repouso, esta enzima está na forma de xantina desidrogenase (pouco ativa), utilizando o NAD^+ como acceptor de elétrons. Quando há isquemia provocada pelo exercício intenso, essa enzima é convertida à forma oxidase usando o oxigênio molecular como acceptor de elétrons, gerando com isso $\text{O}_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 (HELLSTEN, FRANDBEN e ORTHENBLAD, 1997).

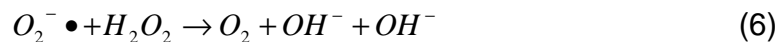
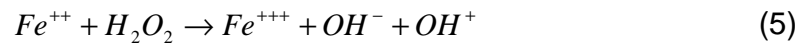
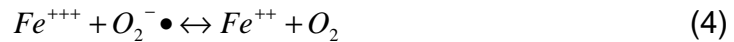
2.4.3 Produção de Espécies Reativas de Oxigênio favorecida pelos íons ferro e cobre

O ferro e o cobre são transportados, utilizados e estocados ligados a proteínas específicas (transferrina, ferritina e ceruloplasmina), as quais previnem ou minimizam as reações de oxidação catalisadas por estes minerais. Os íons ferro e cobre são muito ativos em reações de óxido-redução. O ciclo redox desses minerais promove as reações de Fenton e Haber-Weiss, as quais liberam um potente radical oxidante - hidroxila ($\bullet\text{OH}$) - a partir do H_2O_2 . A $\bullet\text{OH}$ é capaz de retirar um átomo de hidrogênio dos ácidos graxos poliinsaturados da membrana celular e iniciar a peroxidação lipídica. O resultado é o acúmulo de hidroperóxidos que destroem a estrutura e função da

membrana (WELCH *et al.*, 2002). A reação de Fenton está representada nas equações 1, 2 e 3 (adaptado de JACOBS *et al.*, 1987):



A reação de Haber-Weiss está representada nas equações 4, 5 e 6 (adaptado de JACOBS *et al.*, 1987):



Existem evidências de que no citosol das células hepáticas há "ferro livre" ou "ferro lábil" (não ligado à ferritina), definido como aquele ligado fracamente a compostos de baixo peso molecular. Este ferro é facilmente dissociado na forma de íon, tornando-se cataliticamente ativo e apto a participar das reações de produção de EROs. Estas espécies causam vários prejuízos celulares, inclusive às proteínas reguladoras e/ou limitadoras da captação do ferro extracelular. Como conseqüência do excesso oxidativo, ocorre injúria celular com a possível destruição da membrana e morte celular (WELCH *et al.*, 2002).

Existem fatores durante a atividade física intensa, tais como a acidose metabólica, que podem liberar ferro da hemoglobina (ou da mioglobina), tornando-o disponível para participar da formação do radical $\bullet OH$ intracelular (WELCH *et al.*, 2002). Nos eritrócitos, esta liberação é acompanhada pela formação de metahemoglobina, principalmente quando os mesmos estão depletados de glutathione reduzida. A liberação do ferro é acompanhada pela peroxidação lipídica da membrana e como conseqüência ocorre hemólise (COMPORTI *et al.*, 2002).

2.5 BIOMARCADORES DE LESÃO MUSCULAR

O surgimento de proteínas intramusculares na corrente sanguínea tem, há muito tempo, sido considerado um indicativo de dano às fibras musculares, particularmente ao sarcolema, uma vez que essas proteínas normalmente não são capazes de atravessar a barreira da membrana sarcoplasmática (BALNAVE, THOMPSON, 1993). Os métodos indiretos adotados para análise do dano muscular são os mais utilizados nos estudos em função da facilidade de coleta e, sobretudo, pelo baixo custo quando comparado aos métodos diretos.

Zoppi *et al.* (2003) verificaram que atividade física aumenta os marcadores séricos de estresse oxidativo e de lesão músculo-esquelético durante período de competição em atletas de futebol. A seqüência de jogos em uma competição leva os atletas a seguidos estresses mecânicos (microlesões) e metabólicos (estresse oxidativo) que se não forem recuperados rapidamente podem levá-lo a um futuro estado de supertreinamento (BUDGETT *et al.*, 2000).

É descrito que o exercício induz microlesões no tecido muscular esquelético. Durante todo o ciclo de contração (fases excêntrica e concêntrica) as tensões geradas na fibra muscular podem levar a microrrupturas no sarcolema e lâmina basal, sendo que a fase excêntrica se comparada à concêntrica proporciona maior quantidade de microlesões musculares (HORTOBÁGYI *et al.*, 1998; WILLOUGHBY *et al.*, 2003). Essas lesões podem ser observadas diretamente por microscopia ou verificadas indiretamente por marcadores de lesão muscular (HORTOBÁGYI *et al.*, 1998; NOSAKA e NEWTON, 2002; WILLOUGHBY *et al.*, 2003). A ruptura do sarcolema permite o extravasamento do conteúdo intracelular, causando o aparecimento de enzimas, proteínas e fragmentos de proteína no sangue. Entre estes marcadores de lesão muscular destacam-se a CK, LDH, mioglobina (Mb), troponina I e fragmentos de miosina. Sendo assim verificar o aparecimento destas enzimas no sangue serve como indicador de lesão muscular (NOSAKA e NEWTON, 2002).

A CK, LDH, AST, fragmentos da cadeia pesada de miosina (MHC), troponina-I e Mb, freqüentemente são encontradas como marcadores de dano muscular, isso porque, como já citado, essas moléculas são citoplasmáticas e não têm a capacidade de

atravessar a barreira da membrana sarcoplasmática (BROWN, CHILD, DONNELLY, 1997). Por esse fato, o aumento da concentração sérica dessas moléculas é utilizado como indicativo de dano na membrana muscular e outras estruturas teciduais. Dentre essas moléculas, a CK é frequentemente descrita como melhor marcador indireto de dano ao tecido muscular, sobretudo após o exercício de força ou outros exercícios que exijam ações predominantemente excêntricas (CLARKSON e HUBAL, 2002; FRIDEN e LIEBER, 1998; BROWN, CHILD e DONNELLY, 1997; NOSAKA e NEWTON, 2002; SMITH *et al.*, 1994; NOSAKA *et al.*, 2005). Ainda, outra razão pela qual a CK é considerada o melhor indicador de ruptura na estrutura da célula muscular, é porque este composto é localizado, quase que exclusivamente, no tecido muscular esquelético e cardíaco (BALNAVE e THOMPSON, 1993; BROWN *et al.*, 1997; NOSAKA e CLARKSON, 1994; NOSAKA e CLARKSON, 1995).

2.5.1 Creatino Cinase (CK)

A CK, também denominada ATP-Creatino-fosfotransferase, é uma importante enzima reguladora da produção e utilização de fosfatos de alta energia nos tecidos contráteis. A CK total é encontrada em concentrações muito altas na musculatura esquelética e cardíaca. Quantidades apreciáveis são encontradas no cérebro, estando presente também no intestino e nos pulmões. A CK não é encontrada no fígado (WESTGARD *et al.*, 1981).

A CK total possui alta sensibilidade clínica para o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (>90%), porém os resultados não são específicos para lesão miocárdica. Várias condições não relacionadas ao miocárdio provocam elevação da CK total (WESTGARD *et al.*, 1981).

Segundo a *International Federation of Clinical Chemistry* (1980) a CK é um dímero, isto é, compõe-se de duas cadeias diferentes, chamadas M (*muscle*) e B (*brain*). Estas duas cadeias podem combinar-se de três formas, formando as chamadas isoenzimas da CK: CK-MM, CK-MB, e CK-BB. A primeira, CK-BB ou CK-1 é encontrada predominantemente no cérebro, podendo se encontrada também no cólon, íleo, estômago e bexiga (LANG, WURZBURG, 1982). A segunda, CK-MB ou CK-2 é forma

híbrida predominante no miocárdio, onde representa cerca de 20% da CK contra 80% de CK-MM (FREDERICKS *et al.*, 2002); e a terceira, a CK-MM ou CK-3 é a predominante no músculo esquelético (APPLE, HELLSTEN, CLARKSON, 1988). Estas três isoformas da CK são encontradas no citosol ou associadas a estruturas miofibrilares. O músculo esquelético contém quase inteiramente CK-MM, com pequenas quantidades de CK-MB, numa proporção que varia entre 1% e 4%. A maior atividade desta enzima no músculo cardíaco é também atribuída a CK-MM com, aproximadamente, 20% de CK-MB. Concentrações elevadas de CK-MB são de grande significado diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (LANG, WURZBURG, 1982).

A CK é responsável pela hidrólise da fosfocreatina, separando o Pi da creatina e dessa forma liberando energia. Contudo, a energia liberada não é utilizada diretamente na contração muscular, mas sim para ligar uma molécula Pi a uma molécula de ADP (LEHNINGER, NELSON, COX, 1998). No tecido muscular esquelético, sua função é auxiliar o metabolismo na ressíntese de adenosina trifosfato (ATP), estando envolvida na primeira via energética e também a mais simples para fosforilação do ATP (LEHNINGER, NELSON, COX, 1998).

O soro normal contém em torno de 94 -100% de CK-MM. Portanto, os indivíduos sem enfermidades que demonstram aumento na concentração de CK, apresentam indicativo de lesão no músculo esquelético (WARREN, 2001).

A liberação de proteínas musculares, tais como a CK é tida como uma evidência de dano muscular, pois normalmente esta enzima é incapaz de atravessar membranas celulares. Desta forma, considera-se que a liberação de CK, via vasos linfáticos, refletiria alterações importantes ocorridas na estrutura das membranas, tornando-as mais permeáveis a grandes moléculas tais como as proteínas (JACOBS *et al.*, 1987). A concentração sérica da CK está sujeita as variações fisiológicas que afetam a atividade da enzima, como: sexo, idade, massa muscular, tipo de exercício realizado e etnia (CLARKSON, HUBAL, 2002).

Além disso, a prática de exercícios físicos também está associada a danos celulares acarretados pela produção excessiva de RL, dentre os quais se destaca a lesão da membrana celular, representada pelo aumento no extravasamento da CK para o plasma durante o esforço.

Estudos envolvendo esforços físicos até exaustão têm relatado aumento significativo nas concentrações de CK plasmática imediatamente após exercício em esteira (~137%) em ratos, e três (~74%), 24h (~219%) e 48h (~129%) após teste incremental até a exaustão, seguido por 15 min de corrida a 110% do limiar anaeróbio individual, previamente determinado, em humanos (NIESS *et al.*, 2002). Ainda, o aumento das concentrações plasmáticas de CK pode ser utilizado, também, como indicador de estresse durante protocolos de esforços predominantemente anaeróbios. Contudo, esse aumento parece apresentar uma cinética dependente das características do esforço precedente, tornando-se mais evidente de dois a quatro dias após exercício excêntrico (SAXTON; DONNELLY e ROPER, 1994; CHILDS *et al.*, 2001; BEATON *et al.*, 2002).

2.5.2 Lactato Desidrogenase (LDH)

A lactato desidrogenase (LDH) pertence a uma classe de enzimas que catalisam reações de oxi-redução e são amplamente distribuídas em todos os tecidos humanos. A LDH tem localização citoplasmática e as maiores concentrações são encontradas no fígado, coração, rim, músculo esquelético, eritrócitos, pulmão, baço, plaquetas, leucócitos e cérebro. As concentrações de LDH dentro das células são cerca de 500 vezes maiores do que no soro, sendo que qualquer aumento na atividade da LDH no sangue sugere lesão tissular (WESTGARD *et al.*, 1981).

A LDH catalisa a redução do piruvato pelo NADH, obtendo-se lactato e NAD^+ . A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de desaparecimento do NADH, medido a 340nm (WESTGARD *et al.*, 1981).

Segundo a *Scandinavian Society for Clinical Chemistry* (1974) sua dosagem é especialmente indicada nas patologias hepáticas, miocardites, infarto do miocárdio, distrofia muscular, mononucleose infecciosa e linfomas. A lesão tissular hepática e muscular (lisa, estriada e cardíaca) provoca a liberação da enzima e conseqüentemente sua elevação sérica. A enzima LDH, embora menos específica que a CK e AST, tem a sua concentração elevada nas lesões musculares (WESTGARD *et al.*, 1981).

Lesões musculares de etiologia variada podem estar relacionadas ao aumento da LDH. A deficiência da vitamina E ou selênio e a mioglobínúria são causas de aumento da LDH (CARDINET, 1997). Segundo Balogh (2001) a LDH aumenta imediatamente após o exercício e se mantém elevada após 24 horas, diferente da CK, que tem um pico após o exercício, mas retorna aos valores basais após um dia. Por se apresentar como bom indicador de lesão muscular a LDH, juntamente com CK e AST pode ser utilizada para monitorar a intensidade do exercício (GARCIA *et al.*, 2000).

2.5.3 Aspartato Amino Transferase (AST)

A AST, também conhecida como TGO (transaminase oxalo-glutâmico) é uma enzima que catalisa a transaminação reversível de aspartato e 2-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato. Tem como co-fator o piridoxal-fosfato. A concentração catalítica se determina, empregando a reação acoplada de malato desidrogenase (MDH), a partir da velocidade de desaparecimento no NADH, medido a um comprimento de onda de 340 nm (WESTGARD *et al.*, 1981). Normalmente é utilizada para diagnosticar lesões musculares juntamente com a CK e LDH. Quando existem injúrias, infecções ou toxinas que resultam em lesão da membrana celular e perda dos componentes citoplasmáticos e mitocondriais para o plasma, é observado um aumento nos níveis desta enzima (WESTGARD *et al.*, 1981).

É considerado um excelente método para avaliar necrose tissular, mas não deve ser utilizada isoladamente. Aumento nos níveis plasmáticos de AST são observados em hepatite infecciosa e tóxica, hemólise, deficiência de selênio ou vitamina E e no exercício físico intenso. Níveis elevados dessa enzima auxiliam no diagnóstico de doenças cardíacas, hepáticas e musculares (WESTGARD *et al.*, 1981). A deficiência de vitamina E e selênio pode causar necrose segmentar dos músculos esqueléticos, incrementando a atividade da AST no plasma. Stockham (1995) salienta que em todas as espécies de animais domésticos a atividade da AST é alta no fígado, portanto, na lesão hepática aguda ou crônica, a atividade sérica de AST está elevada. Segundo Cardinet (1997), essa enzima também tem sido usada como auxílio diagnóstico em alterações musculares dos animais domésticos. Os eqüinos podem apresentar um

aumento nos valores de AST em consequência da miopatia ou lesão hepática, e a principal razão para se incluir a AST no perfil bioquímico de eqüinos é a tentativa de detectar doença hepatocelular (STOCKHAM, 1995).

Na avaliação de lesão muscular, a AST produz aumentos menores que a CK, mas que se estendem por um tempo maior (WESTGARD *et al.*, 1981). Perez *et al.* (1997) sugerem que esta enzima deva ser incluída na monitoração de problemas musculares. A utilização da AST em conjunto com a CK pode oferecer informações mais precisas sobre o período em que se encontra a lesão (TADICH *et al.*, 2000).

A atividade dessa enzima no infarto do miocárdio eleva-se dentro das primeiras 12 horas, atingindo um pico em 24 horas e retornando ao normal por volta do quinto dia. Pequenas elevações são observadas também durante a gravidez. Além disso, níveis aumentados também são encontrados em necrose hepática, anemias hemolíticas, pancreatite aguda, cirrose hepática, hepatites, icterícia obstrutiva, mononucleose, hipotireoidismo, trauma e necrose cerebral, queimaduras severas, distrofias musculares, lesões da musculatura esquelética, cateterização e angioplastia cardíaca (INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY, 1980). Inúmeras drogas comumente usadas podem elevar os níveis de AST (isoniazida, eritromicina, progesterona, esteróides anabólicos etc.), sendo usada na monitoração de terapias que utilizam drogas hepatotóxicas (WESTGARD *et al.*, 1981). Para saber se o aumento da AST é devido a aumento na permeabilidade hepatocelular ou devido a presença de lesão muscular, deve-se associar a dosagem de CK que é músculo específica, assim, elevação simultânea de CK e AST, indicam lesão muscular, enquanto que os níveis elevados na presença de CK normal indicam provável distúrbio hepatocelular (WESTGARD *et al.*, 1981).

Além disso, a AST, por ser uma enzima mitocondrial e citossólica, necessita de uma lesão maior para ser liberada na corrente sanguínea. Por outro lado, CK e LDH, por serem citossólicas e de tamanho pequeno, conseguem ultrapassar a membrana celular mesmo que não haja um dano tecidual muito grande. Na realidade, um simples aumento na permeabilidade da membrana é suficiente para que ocorra extravasamento destas enzimas (PEREZ *et al.*, 1997). Embora a CK seja mais específica para a necrose muscular do que a AST, Cardinet (1997) e Perez *et al.* (1997) salientam que a

determinação simultânea de AST e CK em eqüinos representa valioso potencial diagnóstico e ajuda no prognóstico, em razão das diferentes taxas de desaparecimento de suas atividades no soro ou no plasma.

Segundo Cardinet (1997), a elevação da atividade sérica da CK indica se a necrose muscular é ativa ou ocorreu recentemente; a persistente elevação de CK indica que a necrose muscular continua ativa, e AST elevada, por causa da necrose muscular, acompanhada por atividade decrescente ou normal de CK, indica que a necrose muscular não é mais ativa. Das Cás *et al.*(2000) relatam que a CK tem uma meia-vida de menos de 24 horas, enquanto a AST tem uma meia-vida de sete a oito dias.

2.5.4 Alanina Amino Transferase (ALT)

A alanina amino transferase (ALT) ou transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) é uma enzima intracelular presente em grandes quantidades no fígado e rim, e em pequenas quantidades na musculatura esquelética e coração que catalisa a transferência do grupo amino da alanina a alfa-cetoglutarato, formando piruvato e glutamato. A concentração catalítica se determina, empregando a reação acoplada de LDH, a partir da velocidade de desaparecimento do NADH, medido a 340 nm (WESTGARD *et al.*, 1981).

Segundo a *Scandinavian Society for Clinical Chemistry* (1974), como teste de função hepática, a ALT é mais sensível para detecção de danos do hepatócito do que para obstrução biliar, sendo considerada um excelente marcador hepatocelular. Níveis elevados são encontrados na hepatite infecciosa e tóxica, doença pancreática, cirrose, icterícia obstrutiva e carcinoma metastático. Em pacientes com infarto do miocárdio a ALT geralmente está normal ou ligeiramente elevada. Entretanto, insuficiência cardíaca ou choque com necrose hepática concomitante pode levar a elevações de seus níveis.

Como cofator, esta enzima requer piridoxal. Gestação, nutrição inadequada e falha renal podem levar a uma atividade de ALT diminuída pela deficiência desta vitamina (GELLA, 1994).

2.6 RELAÇÕES ENTRE EXERCÍCIO FÍSICO, ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA ENZIMÁTICO ANTIOXIDANTE

O exercício físico aumenta em torno de 25 vezes o volume de oxigênio total consumido (VO_2) e 100 vezes nas fibras musculares ativas (ASTRÄND e RODAHL, 1986; SJÖDIN, WESLING e APPLE, 1990), permitindo que o $O_2^{\cdot -}$ possa ser formado de várias maneiras (BECKMAN, BECKMAN e FREEMAN, 1990; JENKINS e GOLDFARB, 1993; REID, 1996; SJÖDIN, WESLING e APPLE, 1990; TIIDUS, 1998).

Níveis elevados de EO parecem estar relacionados ao início do processo de “*overtraining*”, caracterizado por alta fadigabilidade e alterações metabólicas que, por sua vez, podem contribuir para um aumento nos níveis de lesão muscular. Diferentes níveis de EO, estresse metabólico e de lesão muscular podem ser mensurados (marcados) através de análises específicas, que podem ser feitas em diferentes tecidos ou no sangue e suas frações.

Durante a atividade física ocorrem diversas adaptações fisiológicas, sendo necessários ajustes cardiovasculares e respiratórios para compensar e manter o esforço realizado. O exercício físico intenso induz a formação ERO associadas ao metabolismo energético acelerado. Essas espécies podem contribuir para danos tissulares e celulares e prejudicar o desempenho do atleta.

O exercício físico é uma condição que exerce influência sobre o balanço entre ataque oxidativo e os mecanismos de defesa antioxidante. Durante os exercícios físicos, ocorrem várias reações químicas que levam à formação de ERO. Para proteger os tecidos contra os danos causados pelas ERO produzidos durante o exercício físico as enzimas antioxidantes como SOD, catalase, glutathione peroxidase e glutathione reduzida parecem responder de maneira adaptativa, elevando suas atividades nos tecidos e órgãos de indivíduos treinados (AVILA e FERNANDES, 1999; JENKINS e GOLDFARB, 1993; PEREIRA *et al.*, 1996).

Pelo exposto acima, fica evidente que a sobrevivência celular frente ao ataque dos RL produzidos no exercício dependerá de um equilíbrio entre os processos de produção e de eliminação das espécies reativas. Qualquer circunstância que desequilibre estes dois processos induzirá a instalação de EO, quando prevalecerá a

formação de oxidantes aos antioxidantes (ALESSIO, 1993). Neste caso, o acúmulo de reações de oxidação pode induzir alterações severas em várias estruturas celulares. A ação das ERO sobre o sistema enzimático antioxidante parece ter relação direta com seu nível de produção (ALESSIO, 1993; SMOLKA *et al.*, 2000). Vários trabalhos da literatura mostram que indivíduos ou animais adaptados a um protocolo de treinamento possuem níveis mais elevados de enzimas antioxidantes e certos oxidantes não enzimáticos no músculo, demonstrando uma resistência maior ao EO induzido pelo exercício físico (RADÁK *et al.*, 1999; SEM, 1995; SMOLKA *et al.*, 2000). Por outro lado, vários autores também mostram um efeito inibitório na atividade dessas enzimas numa situação de exercício exaustivo, com aumento na concentração de produtos de ataque oxidativo (DAVIES *et al.*, 1982; SJÖDIN, WESLING e APPLE, 1990; SMOLKA *et al.*, 2000). A modulação dos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos em resposta ao treinamento físico tem sido descrita principalmente para o treinamento de endurance, caracterizado por volumes maiores e intensidades moderadas (ALESSIO, 1993; SEN, 1995; TIIDUS, 1998). Já o treinamento de alta intensidade raramente é abordado quanto a sua influência sobre a modulação da defesa antioxidante, sendo pobremente descrito, com resultados ainda discrepantes.

2.7 DEFESAS ANTIOXIDANTES

Para prevenir ou reduzir os efeitos causados pelo EO gerado pelo exercício intenso, o organismo está equipado com diversos mecanismos de defesa antioxidante (CLARKSON e THOMPSON, 2000; GOLDFARB, 1999).

Os antioxidantes são substâncias que, mesmo presentes em baixas concentrações, são capazes de atrasar ou inibir as taxas de oxidação (MAXWELL, 1995; SIES, 1993). São capazes de interceptar os RL gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, sobre os aminoácidos das proteínas, às duplas ligações dos ácidos graxos poliinsaturados e nas bases do ácido desoxirribonucléico (DNA), evitando a formação de lesões e a perda da integridade celular (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

A classificação mais utilizada para estas substâncias é a que as divide em dois sistemas, o enzimático, composto pelas enzimas produzidas no organismo, e o não-enzimático, fazendo parte deste grupo as vitaminas e outras substâncias, como os flavonóides, licopeno e bilirrubina (SIES, 1993). O sistema de defesa antioxidante do organismo tem como principal função inibir ou reduzir os danos causados às células pelas ERO. Existe uma grande variedade de substâncias antioxidantes, as quais podem ser classificadas em função da origem e/ou localização em antioxidantes dietéticos e antioxidantes intra e extracelulares (Quadro 4) (JACOBS *et al.*, 1987). Os antioxidantes agem em três linhas de defesa orgânica contra as ERO. A primeira linha, que é a de prevenção, se caracteriza pela proteção contra a formação das substâncias agressoras. A segunda linha é a interceptação, e neste estágio os antioxidantes precisam interceptar os RL, os quais, uma vez formados, iniciam suas atividades destrutivas. E a última linha é o reparo. Ela ocorre quando a prevenção e a interceptação não foram completamente efetivas e os produtos da destruição pelos RL estão sendo continuamente formados em baixas quantidades e desta forma, podem se acumular no organismo (KONG e LILLEHEI, 1998). O sistema não enzimático é composto pelas vitaminas A (retinol), E (α -tocoferol) e C (ácido ascórbico) e outros compostos como a metalotioneína, bilirrubina e ácido úrico, o zinco e o selênio (MAXWELL, 1995).

O desequilíbrio entre a liberação de ERO e a capacidade de ação dos sistemas de defesa antioxidante promove o estresse oxidativo. O excesso de liberação de espécies reativas de oxigênio faz parte do mecanismo intermediário de várias doenças que envolvem isquemia, inflamação, trauma, doenças degenerativas e morte celular por ruptura da membrana (lipoperoxidação) e inativação enzimática (STRAIN e BENZIE, 1998).

2.7.1 Defesas Endógenas

Quando a produção fisiológica de RL se torna prejudicial, o organismo dispõe de sistemas de defesa enzimáticos específicos, que estão presentes no local de produção dos RL e mantêm os mesmos em concentrações muito baixas.

Antioxidantes Dietéticos	Antioxidantes Extracelulares	Antioxidantes Intracelulares
Prevenção Zinco Selênio	Prevenção Albumina Bilirrubina Ceruloplasmina Ferritina Mioglobina Metalotioneína (zinco) Haptoglobina	Prevenção Glutationa peroxidase Superóxido dismutase (zinco) Ácido Úrico Coenzima Q Catalases
Varredores Ácido Ascórbico Alfa-tocoferol Carotenóides	Varredores Ácido Ascórbico Alfa-tocoferol Carotenóides	Varredores Ácido Ascórbico Alfa-tocoferol Carotenóides
		Reparo Metaloenzimas (zinco)

Quadro 4 - Principais substâncias antioxidantes (adaptado de JACOBS et al. 1987)

A defesa primária é dada, portanto, por enzimas que cataliticamente limpam os intermediários na redução do oxigênio: os “scavengers”. Elas agem principalmente evitando a formação de $O_2^{\cdot-}$ e de H_2O_2 para que estes não formem o radical $\bullet OH$, cuja inativação enzimática não é possível (JACOB, 1985).

2.7.1.1 Superóxido Dismutase (SOD)

Esta enzima catalisa a reação de dois ânions superóxidos com a formação de peróxido, que é menos reativo e pode ser degradado por outra enzima. A equação 7 representa a atuação desta enzima (AVILA e FERNANDES, 1999).



Existem três tipos de SOD; a citoplasmática, que contém cobre e zinco em seu sítio de ativação; a da na matriz mitocondrial, que contém manganês em seu sítio de

ativação e a encontrada em bactérias e plantas, que contém ferro em seu sítio de ligação (AVILA e FERNANDES, 1999).

2.7.1.2 Catalase (CAT)

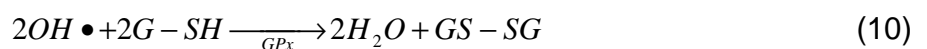
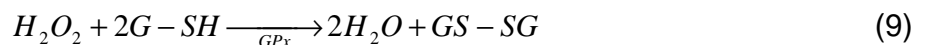
É uma hemoproteína (possui o grupo heme) e é altamente específica, transformando o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio representado na equação 8 (PRYOR e GODBER, 1991).



Está presente em alguns órgãos que possuem no interior de suas células os peroxissomos (vesículas intracelulares). Coração, pulmões e cérebro estão mais expostos aos danos provocados pelos RL, pois não possuem peroxissomos. Nestes órgãos o H_2O_2 se difunde para o sangue, onde reage com a catalase eritrocitária das hemácias e assim é inativado (PRYOR e GODBER, 1991).

2.7.1.3 Glutationa Peroxidase (GPx)

Esta enzima usa selênio e tem uma ação mais geral, catalisando a redução de muitos peróxidos (como o lipídico, por exemplo) pela glutaciona reduzida (equações 9 e 10) (SIES, 1993). A glutaciona é um tripeptídeo com sulfidril que pode ser reciclado pela interação da forma oxidada com NADPH. Esta reciclagem torna a glutaciona reduzida muito efetiva contra as ERO (SIES, 1993). A enzima glutaciona peroxidase está presente no citoplasma e na mitocôndria.



Todas as enzimas citadas anteriormente possuem sua atividade dependente da pressão parcial de oxigênio (PRYOR e GODBER, 1991; SIES, 1993). Em estados de hipóxia, suas atividades se reduzem e aumenta a quantidade de EROs formadas durante a reperfusão, quando se restabelecem os níveis elevados de oxigênio.

2.7.2 Defesas Exógenas

Além dos antioxidantes endógenos existem substâncias obtidas da alimentação que ajudam a combater a formação e ação de ERO. Entre os antioxidantes encontrados na dieta, destacam-se:

2.7.2.1 Betacaroteno

É o precursor da vitamina A em vegetais, sendo encontrado na cenoura, espinafre, couve-flor, moranga, batata, damasco, pêsego, papaia e melão. Sua ação como antioxidante é devido ao fato de que a vitamina A consegue capturar radicais livres de oxigênio nos tecidos, principalmente o radical livre hidroxila.

A vitamina A foi a primeira vitamina lipossolúvel a ser reconhecida em 1913 e o β -caroteno é o carotenóide encontrado na natureza com maior poder de formação de vitamina A e é capaz de conferir proteção contra diversos tipos de tumores em animais (LEDERE, 1990). Entre as suas funções está a capacidade de inibir a oxidação de compostos pelos peróxidos. O mecanismo pelo qual estas substâncias protegem os sistemas biológicos contra os danos mediados pelos RL parece depender da taxa de repressão da reação de formação dos RL (MUINDI, 1996).

2.7.2.2 Ácido ascórbico (ascorbato ou vitamina C)

O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel e é considerado o mais efetivo dos antioxidantes, sendo encontrado em frutas cítricas e vegetais.

Em pH fisiológico, a vitamina C libera um elétron, que o radical α - tocoferol (vitamina E modificada) capta, tornando-se acetato de tocoferol. Pode-se, portanto, dizer que a função da vitamina C é reciclar a vitamina E e, deste modo, prevenir o ataque dos RL. O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel e antioxidante que reage diretamente com o oxigênio simples, radical hidroxila e radical superóxido, além de regenerar a vitamina E. Além disto, esta vitamina mantém as enzimas tióis em seus estados reduzidos e poupa a glutathione peroxidase, que é um importante antioxidante intracelular e cofator enzimático (CARR e FREI, 1999).

2.7.2.3 Acetato de α -tocoferol (Vitamina E)

A vitamina E é outro antioxidante dietético de grande importância, e sua forma mais importante é o α -tocoferol (CARR e FREI, 1999). É uma vitamina lipossolúvel encontrada em frutas oleaginosas e azeites vegetais. Por ser lipossolúvel se dissolve nas membranas celulares e captura o radical livre hidroxila. Sua função como antioxidante é proteger os tecidos adiposos do ataque de RL, como por exemplo, a formação de radicais peróxidos a partir de ácidos graxos poliinsaturados nas membranas fosfolipídicas (FABER *et al.*, 1995; HATCKOCK, 1997).

2.8 HISTÓRICO E NOVAS PERSPECTIVAS ACERCA DAS VITAMINAS

Vitaminas são uma classe de substâncias orgânicas complexas encontradas em pequenas quantidades na maioria dos alimentos. No total, são 13 as vitaminas já isoladas, analisadas, classificadas, sintetizadas e que apresentam recomendações de consumo. São classificadas em lipossolúveis e hidrossolúveis. As vitaminas A, D, E e K são lipossolúveis, e as hidrossolúveis são a vitamina C, as do complexo B, a biotina e o ácido fólico.

As vitaminas começaram a ser estudadas no início do século XX, pelo então bioquímico inglês Frederick Gowland Hopkins e pelo químico polonês Casimir Funk, sendo responsável este último pela denominação das mesmas. Foram, entretanto, as

pesquisas do químico americano Linus Pauling (1901-1994), ganhador do Prêmio Nobel, que popularizaram as vitaminas, principalmente a vitamina C. Pauling recomendava megadoses da vitamina para o combate de resfriados, gripes e outras viroses, bem como na prevenção do câncer e outras doenças degenerativas (PAULING, 1970).

As vitaminas atuam inicialmente como reguladoras das funções metabólicas. Alguns estudos têm demonstrado que a deficiência de vitaminas pode prejudicar o desempenho esportivo, porém o uso de suplementos vitamínicos em indivíduos com dieta balanceada não tem demonstrado melhora no desempenho. Entretanto, apesar de a maioria das pesquisas que avalia o consumo de vitaminas no exercício não comprovar a necessidade de suplementação para benefícios ergogênicos, vem sendo muito discutido a utilização de algumas destas vitaminas como importantes antioxidantes. Porém, na maioria das vezes, esta utilização no meio esportivo é feita sem nenhuma recomendação especializada.

2.8.1. Vitaminas antioxidantes

A vitamina C ou, simplesmente, ácido ascórbico é vitamina hidrossolúvel e termolábil. Os seres humanos e outros primatas, bem como o cobaio, são os únicos mamíferos incapazes de sintetizar o ácido ascórbico. Neles, a deficiência, geneticamente determinada, da gulonolactona oxidase impede a síntese do ácido L-ascórbico a partir da glicose (PINNEL, MURAD e DARR, 1997; NISHIKIMI, 1994). A dose recomendada para manutenção de nível de saturação da vitamina C no organismo é de cerca de 100mg por dia. Em situações diversas, tais como infecções, gravidez e amamentação, e em tabagistas, doses ainda mais elevadas são necessárias (HORNIG, 1981).

Sabe-se que as vitaminas C, E e o β -caroteno são considerados excelentes antioxidantes, capazes de interceptar os RL com grande eficiência. O uso de medicamentos, o tabagismo, as condições nutricionais, o consumo de álcool, a poluição do ar e alguns fatores podem diminuir os níveis de antioxidantes celulares (MACHLIN, 1992; ROE, 1992). As defesas antioxidantes do organismo podem ser restabelecidas

com dietas apropriadas e suplementos vitamínicos (CARAGAY, 1992; ANDERSON, 1996).

A vitamina E, outro antioxidante conhecido, constitui o nome coletivo para moléculas que exibem atividade biológica de α -tocoferol, incluindo todos os derivados tocóis e tocotrienóis (TRABER, 2003). O α -tocoferol é o que apresenta maior atividade biológica e é encontrado em abundância nos alimentos, porém sua absorção é ineficiente, apenas de 20 a 40% do que é ingerido (ROKITZI *et al.*, 1994).

A vitamina E atua *in vivo* como um antioxidante interruptor de cadeia que previne a auto-oxidação subsequente de lipídios (TRABER, 2003). Assim, apresenta propriedades antioxidantes, particularmente em tecidos que contém níveis elevados de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), existentes nas membranas celulares. Os PUFAs são suscetíveis à oxidação mediada por RL, assim a vitamina E age bloqueando as reações que ocorrem durante o processo de oxidação lipídica, preservando a membrana celular (BIANCHINI-PONTUSCHKA e CAMARGO PENTEADO, 2003).

A vitamina E aparece nos alimentos predominantemente como α -tocoferol. Tocoferóis ocorrem em grandes concentrações em gérmen de trigo, amêndoas, nozes e avelãs. Óleos ricos em PUFAs, como os de girassol, amendoim, milho e soja recebem fortificação com vitamina E. Carnes, sobretudo as com maior teor de gordura, também são boas fontes de vitamina E. Produtos fabricados com estes óleos, como margarinas e maioneses, também apresentam essa vitamina (RONCADA, 1998). Frutas e hortaliças contêm menores quantidades (TRABER, 2003).

Uma fonte importante de vitamina E atualmente é o consumo de suplementos em pílulas, devido à propriedade antioxidante desta vitamina. Os danos oxidativos podem ser inibidos pela ação antioxidante dessa vitamina, juntamente com a glutatona, a vitamina C e os carotenóides, constituindo um dos principais mecanismos da defesa endógena do organismo (RILEY, 1994).

Além disso, doses bem acima das recomendações têm apresentado efeitos benéficos no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, inflamações crônicas, e doenças de Alzheimer e Parkinson (BRIGELIUS-FLOHÉ *et al.*, 2002). Entretanto, tem sido relatado que doses muito elevadas dessa vitamina também podem agir como pró-oxidante (BIANCHINI-PONTUSCHKA e CAMARGO PENTEADO, 2003).

A ingestão dietética de 15mg/dia para homens e mulheres, acima de 13 anos de idade é recomendada pelas RDIs (2001). A ingestão de 50 a 100 vezes além das recomendações parece ser segura. Contudo, pessoas tratadas com anticoagulantes não devem receber doses altas de vitamina E para evitar hemorragias. Exceto por esta interação com a vitamina K, não parece haver efeitos colaterais específicos associados a altas doses de vitamina E em adultos (RONCADA, 1998).

A relação entre a atividade da vitamina E e sua função molecular como antioxidante está principalmente em sua localização na membrana celular, onde é um eficaz agente quelante de ERO. A deficiência em α -tocoferol pode causar perda da integridade da membrana celular e aumentar a peroxidação lipídica (BURTON, 1994; GOLDFARB, 1993), causando redução no desempenho e danos teciduais (EVANS e HALLIWEL, 2001).

Neste sentido, Takanami *et al.* (2000) sugerem suplementação de 100 a 200 mg de vitamina E por dia para todos os atletas de endurance com o intuito de prevenir os danos causados pelo exercício.

Além disso, Krumbach *et al.* (1999) investigaram a prevalência e as razões do uso de suplementos a base de vitaminas e minerais em atletas de uma universidade e observaram que 56,7% dos entrevistados faziam uso de suplementos com regularidade (>5 vezes por semana) e as principais razões eram recomendação da família e amigos visando melhorar o desempenho esportivo.

No Brasil, nas pesquisas existentes com relação à suplementação de vitaminas, os resultados não são muito diferentes. Santos e Barros Filho (2002) investigaram o uso de suplementos de vitaminas entre estudantes (não-atletas) de uma universidade de São Paulo. O estudo revelou que 30,4% consumiam principalmente complexos multivitamínicos e vitamina C isolada para manutenção da saúde.

A suplementação vitamínica, tanto daquelas pertencentes ao Complexo B quanto das vitaminas antioxidantes tem sido bastante pesquisada. Alguns estudos demonstram que a suplementação das vitaminas C e E é capaz de prevenir as lesões celulares, atuando na manutenção da integridade das membranas e na “varredura” dos RL (BACURAU e ROSA, 2004; BACURAU, 2005). Porém, quando o objetivo é verificar efeitos ergogênicos, a maioria dos estudos demonstram que a suplementação

vitamínica não é capaz de aprimorar o desempenho ao exercício físico e nem o potencial de suportar níveis mais intensos de treinamentos (APPLEGATE e GRIVETTI, 1997).

Quanto à ingestão de suplementos de vitaminas entre atletas brasileiros e os níveis de adequação de consumo entre diferentes modalidades de esporte, observam-se ainda poucos estudos, principalmente pela falta de informações acerca do assunto. Considera-se que, para atletas em treinamento intenso, apesar de existirem poucas evidências científicas, o consumo de 500 a 1.500mg/dia de vitamina C e de vitamina E seriam importantes aliados para a preservação do funcionamento adequado do sistema imunológico e para abrandar efeitos deletérios causados pelo aumento dos RL (SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE, 2003).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA

Segundo Thomas e Nelson (2002), a presente pesquisa é do tipo experimental, à medida que se interfere na realidade, manipulando-se protocolos de suplementação (variáveis independentes) para se observar a concentração das enzimas biomarcadoras de lesão muscular (variáveis dependentes) e de delineamento quase-experimental por ser realizada sem aleatoriedade da amostra e sem grupo de controle.

Grupos	Delineamento
Grupo 1	O ₁ X ₁ O ₃
Grupo 2	O ₂ X ₂ O ₄

Quadro 5 - Delineamento da Pesquisa (adaptado de Campbell e Stanley, 1979)

O₁ e O₂ = pré-teste

O₃ e O₄ = pós-teste

X₁ = suplementação com 750mg/dia de ácido ascórbico

X₂ = suplementação com 750mg/dia de α -tocoferol

3.2 SUJEITOS DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada com 11 jogadores profissionais de voleibol, da cidade de Florianópolis/SC, com idades entre 18 e 35 anos (23 \pm 5 anos), selecionados intencionalmente. Todos treinavam em média 6 a 8 horas por dia e participavam de competições no âmbito estadual e nacional. Os critérios de inclusão foram definidos por

uma entrevista prévia, na qual o atleta não poderia estar realizando ou ter realizado nos últimos dois meses nenhum tipo de suplementação vitamínica. Os atletas da equipe que na ocasião dos primeiros testes estavam em tratamento fisioterapêutico ou medicamentoso devido à presença de lesões não foram incluídos no grupo da pesquisa.

Na ocasião da entrevista inicial, os atletas foram subdivididos por meio de sorteio em dois grupos experimentais:

Grupo 1 – Recebeu suplementação de 750 mg/dia de ácido ascórbico durante 60 dias.

Grupo 2 – Recebeu suplementação com 750 mg/dia de α -tocoferol durante 60 dias.

3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

3.3.1 Entrevista

Inicialmente foi aplicado um questionário no qual constava a identificação pessoal de cada atleta, bem como algumas questões referentes ao uso suplementos alimentares e medicamentos (anexo 1). Este questionário inicial teve o objetivo de excluir da amostra os sujeitos que estavam utilizando suplementação vitamínica, ou que a tenham realizado nos últimos 60 dias. Em seguida foi entregue aos atletas e explicado a forma de preencher um recordatório de 3 dias sobre o consumo de alimentos (anexo 2). O recordatório alimentar foi utilizado para a caracterização da média de consumo energético e de vitaminas C e E pelos atletas. Para o cálculo da ingestão de energia foi utilizado o software Nut[®] versão 2.5. Também neste momento, os sujeitos receberam o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo 3), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos desta Universidade (protocolo 166/05) (anexo 4).

3.3.2 Avaliação antropométrica

As medidas antropométricas coletadas foram: massa corporal em balança digital TOLEDO[®], estatura em estadiômetro SANNY[®] e medidas de dobras cutâneas com o compasso CESCORF[®]. As dobras cutâneas aferidas foram tricipital, subescapular, supra-iliaca e abdominal. Para a estimativa do percentual de gordura foi utilizado o protocolo de Lohman (1992). A avaliação antropométrica foi realizada para caracterização dos sujeitos da pesquisa.

3.3.3 Suplementação vitamínica

A suplementação vitamínica foi realizada com 750mg de α – tocoferol ou com 750 mg de ácido ascórbico, administradas em dose única diária. Ambas foram produzidas pelo laboratório de manipulação BIFARMA[®] (CNPJ 65.837.916/0025-13). As vitaminas foram acondicionadas em embalagem própria, mas sem identificação. Os sujeitos receberam orientação para ingerirem três cápsulas por dia, pela manhã e conservá-las em local seco e ao abrigo da luz e umidade. A suplementação foi realizada no esquema duplo-cego onde tanto os sujeitos quanto o pesquisador não tiveram acesso ao tipo de vitamina ingerida pelos participantes.

3.3.4 Teste máximo

Para a realização do estudo, os sujeitos foram submetidos a um teste máximo de campo – TCar (CARMINATTI *et al*, 2004). Este teste máximo teve o objetivo de determinar o pico de velocidade de cada atleta, para poder realizar o teste retangular a 80% deste pico de velocidade, que corresponde aproximadamente ao limiar anaeróbio. O protocolo do TCar é do tipo escalonado, com multi-estágios de 90 segundos de duração (5 vezes 12 segundos de corrida em sistema “vai-e-vem”; intercalados por pausas de 6 segundos de caminhada). O teste iniciou com $9,0 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ (15m entre os cones) com incrementos de $0,6 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ a cada estágio, mediante aumento de 1m na

distância entre os cones. O ritmo de corrida foi ditado por sinais sonoros emitidos com intervalos fixos de seis segundos (CARMINATTI *et al.*, 2004).

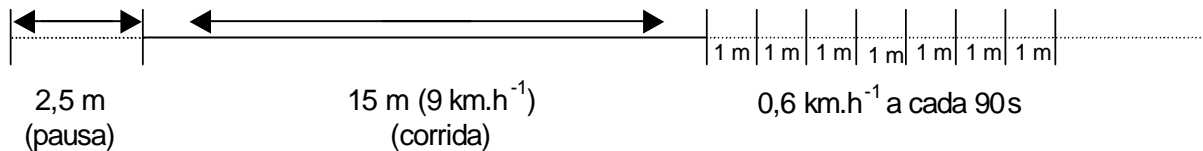


Figura 1 - Visualização do esquema do teste intermitente TCar.

Cada atleta foi orientado a acompanhar o ritmo do protocolo até a exaustão voluntária, sendo considerado um teste máximo sempre que o sujeito atingisse pelo menos 90% da FC_{max} predita (220-idade). Foi anotada frequência cardíaca (FC) final de cada estágio ao longo do protocolo, até a interrupção do teste, considerando-se como FC_{max}, o maior valor de FC registrada no teste. A maior velocidade atingida foi chamada de pico de velocidade (PV). Nos casos em que o atleta interrompeu o teste antes de finalizar o estágio, o PV (km.h⁻¹) foi corrigido a partir da seguinte equação:

$$PV_{cor} = v + [(nv/10) \cdot 0,6] \quad (11)$$

onde: v é a velocidade do último estágio completo em km.h⁻¹, o nv é o número de voltas percorridas no estágio incompleto, 10 é o número total de voltas de um estágio (excluindo-se as 4 voltas computadas como pausas) e 0,6 km.h⁻¹ o incremento da velocidade (adaptado de KUIPERS *et al.*, 1985).

3.3.5 Teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade

Quarenta e oito horas após a realização do teste máximo, foi realizado um teste de carga retangular. O teste retangular foi realizado em 3 séries de 8 minutos cada, com intervalo passivo de 1 minuto, no mesmo sistema do teste máximo, ou seja com corridas de “vai-e-vem”. Cada sujeito realizou o teste retangular com uma intensidade proporcional a 80% do pico de velocidade atingida no TCar, o que representa aproximadamente a intensidade do limiar.

3.3.6. Dosagens de biomarcadores de lesão muscular

3.3.6.1 Coleta de sangue

Foram realizadas 3 coletas sanguíneas em cada momento do experimento. No primeiro momento aconteceram as coletas 1, 2 e 3. A primeira coleta aconteceu 15 minutos antes da realização do teste de carga retangular. A segunda coleta ocorreu imediatamente ao final do teste de carga retangular e a terceira após um período de recuperação de 12 horas do referido teste. No segundo momento, após o período de 60 dias de suplementação vitamínica, foi realizado um novo teste de carga retangular. O procedimento para as coletas sanguíneas 4, 5, e 6 foi o mesmo adotado nas coletas 1, 2 e 3. Em todas as etapas das coletas sanguíneas, os sujeitos foram orientados a se alimentarem previamente com alimentos leves. Após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas durante 5 minutos em centrífuga BIO ENG[®] modelo BE-4004 para separação do soro e analisadas imediatamente.

3.3.6.2 Análise das enzimas biomarcadoras de lesão muscular

Para as análises de AST, ALT, CK e LDH foram utilizados kits com reagentes enzimáticos colorimétricos específicos para dosagem de cada analito da marca BIOTÉCNICA[®], compatíveis com o espectrofotômetro CONCEPT Bioplus 2000[®].

3.4 COLETA DE DADOS

3.4.1 Período pré-suplementação

Primeiramente, foi realizado um contato prévio com o responsável técnico da equipe, para a definição da pesquisa e escolha dos indivíduos participantes da mesma. A seguir, os atletas foram informados sobre os objetivos e as principais metodologias a serem empregadas no estudo. Uma vez selecionados, os sujeitos da pesquisa foram orientados a não ingerir nenhum outro tipo de suplemento a base de vitaminas durante todo o período do estudo, bem como manter sua alimentação habitual e não modificá-la durante os meses do estudo.

Foi realizada então uma entrevista inicial para obtenção dos dados dos sujeitos da pesquisa. A seguir, os sujeitos foram submetidos a uma avaliação antropométrica.

Na seqüência, os atletas foram submetidos a um teste máximo (TCar) para a determinação do pico de velocidade (CARMINATI *et al.*, 2004).

Quarenta e oito horas após a realização do TCar, os sujeitos foram submetidos a um teste de carga retangular, a 80% do pico de velocidade alcançado no teste máximo.

Todos os indivíduos do estudo foram então submetidos a dosagens bioquímicas de indicadores de lesão muscular, com intuito de determinar as concentrações de CK, LDH, AST e ALT, no período pré-suplementação.

As coletas sanguíneas foram realizadas 15 minutos antes, imediatamente após e depois de 12 horas de recuperação do teste de carga retangular. As dosagens bioquímicas dos marcadores de lesão muscular foram realizadas imediatamente após a separação do soro, após cada uma das coletas.

3.4.2 Período de suplementação

Os atletas foram divididos em dois grupos. Um grupo com cinco integrantes e um grupo com seis integrantes. Cada grupo foi submetido a um protocolo de suplementação, escolhido de forma aleatória. Ou seja, o grupo 1 recebeu respectivamente 750 mg/dia de ácido ascórbico e o grupo 2 recebeu 750 mg/dia de α -tocoferol durante 60 dias. O período de suplementação correspondeu à fase inicial da Superliga Nacional 2006/2007, realizada entre os meses de outubro de 2006 a dezembro de 2006.

3.4.3. Período pós-suplementação

Após os 60 dias de suplementação, todos os indivíduos foram submetidos novamente a outro teste de carga retangular tendo como base 80% do mesmo pico de velocidade atingido no TCar. Nesta etapa foram realizadas as coletas sanguíneas 4, 5 e 6, que aconteceram 15 minutos antes da realização do teste retangular, imediatamente após o teste e 12 horas após a recuperação. As dosagens bioquímicas dos marcadores de lesão muscular foram realizadas imediatamente após a separação do soro, após cada uma das coletas.

3.5 TRATAMENTO DOS DADOS

Os dados foram tratados através de estatística descritiva com média, desvio padrão, mínimo e máximo.

Para verificar a normalidade dos dados foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro Wilk. Para verificar o efeito do exercício nas concentrações das enzimas marcadoras de lesão muscular nos diferentes momentos do experimento foi utilizado

ANOVA *one way* para dados paramétricos com teste *post hoc* de Tukey e o intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Para dados não paramétricos foi utilizado o teste de *Friedmann* e *post hoc* de *Wilcoxon* ($p < 0,05$). Para comparação das variáveis no mesmo grupo antes e após a suplementação foi utilizado teste de *Wilcoxon* para dados não paramétricos e teste t de *Student* para dados paramétricos ($p < 0,05$). As variáveis mensuradas nos períodos pré e pós suplementação foram comparadas entre os grupos utilizando teste t não pareado para grupos independentes para os dados paramétricos e teste U de *Mann-Whitney* para dados não paramétricos. Os dados foram tratados com o auxílio do software SPSS 14.0.

4 RESULTADOS

Os resultados estão apresentados conforme os objetivos específicos previamente definidos.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUJEITOS DA PESQUISA

Tabela 1 - Variáveis morfológicas antes do início da suplementação

n=11	Mínimo	Máximo	Média e DP
Idade (anos)	18	35	22,9 ± 4,5
Peso (kg)	65,1	104,1	88,1 ± 11,5
Estatura (cm)	181,4	207,7	194,3 ± 9,9
Σ 3dobras cutâneas (mm)	19,6	45,0	33,4 ± 7,6
% de Gordura (Lohman)	4,1	14,9	11,9 ± 2,7

Tabela 2 - Variáveis morfológicas ao final do período de suplementação

n=11	Mínimo	Máximo	Média e DP
Idade (anos)	18	35	22,9 ± 4,5
Peso (kg)	64,4	104,6	88,1 ± 11,6
Estatura (cm)	181,4	207,7	194,3 ± 9,9
Σ 3dobras cutâneas (mm)	18,2	47,6	32,8 ± 9,6
% de Gordura (Lohman)	3,8	15,7	11,8 ± 3,3

Tabela 3 - Ingestão de nutrientes (via alimentos) antes e após o período de suplementação

n=11	Antes da suplementação	Após suplementação
Energia (Kcal)	3014 ± 223	3152 ± 336
Proteínas (g)	127 ± 32	114 ± 18
Carboidratos (g)	442 ± 99	470 ± 89
Lipídios (g)	85 ± 15	78 ± 25
Vitamina C (mg)	203 ± 144	160 ± 83
Vitamina E (mg)	8 ± 6	10 ± 4

4.2 COMPORTAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DOS BIOMARCADORES DE LESÃO MUSCULAR CK, LDH, AST E ALT ANTES, IMEDIATAMENTE APÓS E 12 HORAS DEPOIS DE UM TESTE DE CARGA RETANGULAR NOS PERÍODOS PRÉ E PÓS-SUPLEMENTAÇÃO

Tabela 4 - Concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular, no período pré-suplementação do grupo suplementado com vitamina C.

n=6	Pré-teste	Final do teste	Recuperação
CK (UI)	293 ± 173	324 ± 187	264 ± 137
LDH (UI)	273 ± 25	342 ± 46	307 ± 66
ALT (UI)	18 ± 7	20 ± 8	18 ± 8
AST (UI)	24 ± 7	29 ± 8*	22 ± 6**

* Diferença significativa ($p=0,02$) em relação ao pré-teste (Teste de Friedmann e Post Hoc de Wilcoxon)

** Diferença significativa ($p=0,02$) em relação ao final do teste (Teste de Friedmann e Post Hoc de Wilcoxon)

Em relação ao efeito do exercício submáximo nas concentrações de CK, LDH e ALT antes da realização da suplementação não houve diferença estatisticamente significativa entre os momentos pré-teste, final do teste e recuperação no grupo 1, podendo indicar que neste grupo, o exercício parece não ter influenciado as concentrações enzimáticas destas variáveis.

Neste grupo, pode-se observar diferença estatisticamente significativa entre os momentos pré-teste e final do teste ($p=0,02$) e entre os momentos final do teste e recuperação ($p= 0,02$) nas concentrações de AST antes da suplementação com vitamina C, o que pode indicar que este marcador enzimático pode ser bastante sensível à ação do exercício, retornando a valores prévios após 12 horas de recuperação.

Em relação às concentrações de CK no grupo 2 antes do período de suplementação, pode-se observar diferença estatisticamente significativa entre os momentos pré-teste e final do teste ($p=0,04$). Esta alteração sugere que neste grupo, o exercício pode ter influência no aumento das concentrações de CK.

Tabela 5 - Concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular, no período pré-suplementação do suplementado com vitamina E.

n=5	Pré-teste	Final do teste	Recuperação
CK (UI)	263 ± 24	326± 14*	314 ± 74
LDH (UI)	348 ± 79	385 ± 66	327 ± 114
ALT (UI)	25 ± 14	27 ± 15*	24 ± 13
AST (UI)	28 ± 5	32 ± 5	27 ± 5**

* Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao pré-teste (Teste de Friedmann e Post Hoc de Wilcoxon)

** Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao final do teste (Teste de Friedmann e Post Hoc de Wilcoxon)

Também houve diferença estatisticamente significativa entre os períodos pré-teste e final do teste ($p=0,03$) nas concentrações plasmáticas de ALT no grupo 2, também sugerindo que o exercício pode ter influenciado no aumento das concentrações desta enzima. Quanto às concentrações de AST, houve diferença significativa entre os momentos final do teste e recuperação ($p= 0,04$), podendo demonstrar que após o período de recuperação do exercício, existe uma tendência a diminuição das concentrações de AST.

Para as concentrações de LDH, não foi observada diferença estatisticamente significativa em nenhum dos momentos do teste no período pré-suplementação.

Após o período de suplementação com vitamina C, foi observado aumento significativo nas concentrações de CK no final do teste ($p=0,02$) em relação ao momento pré-teste e entre os momentos pré-teste e recuperação ($p= 0,04$), indicando que o exercício está influenciando o aumento nas concentrações de CK e que a mesma continua aumentando até 12 horas após o final do exercício.

Além disso, podemos observar diferença estatisticamente significativa entre os períodos pré-teste e final do teste ($p=0,02$) nas concentrações plasmáticas de ALT.

Tabela 6 - Comportamento das concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular no período pós-suplementação do grupo suplementado com vitamina C.

n=6	Pré-teste	Final do teste	Recuperação
CK (UI)	302 ± 293	337± 319*	369 ± 309*
LDH (UI)	299 ± 59	326 ± 73	271 ± 55
ALT (UI)	19 ± 10	21 ± 10*	20 ± 9
AST (UI)	26 ± 11	28 ± 11*	25 ± 10**

*Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao pré-teste (Teste de Friedmann e Post Hoc de Wilcoxon)

**Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação final do teste (Teste de Friedmann e Post Hoc de Wilcoxon)

Quanto às concentrações de AST, houve diferença entre os momentos pré-teste e final do teste ($p = 0,02$) e entre os momentos final do teste e recuperação ($p = 0,03$) após o período de suplementação com ácido ascórbico. No entanto, não houve diferença significativa entre os momentos pré-teste, final do teste e recuperação nas concentrações de LDH.

Tabela 7 - Comportamento das concentrações plasmáticas de CK, LDH, AST e ALT antes, imediatamente após e 12 horas depois de um teste de carga retangular no período pós-suplementação do grupo suplementado com vitamina E.

n=5	Pré-teste	Final do teste	Recuperação
CK (UI)	150 ± 29	186± 37	244 ± 68*
LDH (UI)	268 ± 47	327 ± 50	278 ± 58
ALT (UI)	15 ± 8	17 ± 9	17 ± 8
AST (UI)	22 ± 3	26 ± 3*	22 ± 6**

*Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao pré-teste (Anova One Way com Post Hoc de Tukey)

**Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao final do teste (Teste de Friedmann e Post Hoc de Wilcoxon)

Houve aumento significativo entre os momentos pré-teste e recuperação ($p = 0,02$) nas concentrações de CK após o período de suplementação com vitamina E,

sugerindo que as concentrações de CK continuam subindo após 12 horas de recuperação conforme apresentado na tabela 4.

Diferente das concentrações de CK que continuaram aumentando após 12 horas de exercício, as concentrações de AST aumentaram significativamente no final do teste, em relação ao pré-teste, porém, no período de recuperação tiveram uma redução estatisticamente significativa entre os momentos final do teste e recuperação ($p= 0,04$) após o período de suplementação com vitamina E.

Quanto às concentrações de LDH e ALT, não houve diferença significativa entre os momentos pré-teste, final do teste e recuperação após o período de suplementação com vitamina E.

4.3 COMPARAÇÃO NAS CONCENTRAÇÕES DOS BIOMARCADORES DE LESÃO MUSCULAR, ANTES, APÓS E 12 HORAS APÓS UM TESTE DE CARGA RETANGULAR A 80% DO PICO DE VELOCIDADE NOS PERÍODOS PRÉ E PÓS-SUPLEMENTAÇÃO NOS GRUPOS 1 E 2

Tabela 8 - Concentrações médias dos biomarcadores de lesão muscular antes, após e 12 horas depois de um teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade nos períodos pré e pós-suplementação no grupo suplementado com vitamina C (n=6)

	Pré-teste		Final do teste		Recuperação	
	Pré-supl.	Pós-supl.	Pré-supl.	Pós-supl.	Pré-supl.	Pós-supl.
CK (UI)	293 ± 173	302 ± 293	324 ± 187	337 ± 319	264 ± 137	369 ± 309
LDH (UI)	273 ± 25	299 ± 59	342 ± 46	326 ± 73	307 ± 66	271 ± 55
ALT (UI)	18 ± 7	19 ± 10	20 ± 8	21 ± 10	18 ± 8	20 ± 9
AST (UI)	24 ± 7	26 ± 11	29 ± 8	28 ± 11	22 ± 6	25 ± 10

Como demonstrado na tabela 8, em relação à concentração de CK, LDH, ALT e AST não houve diferença significativa em nenhum dos momentos do teste após o período de suplementação com vitamina C no grupo de estudo.

Tabela 9 - Concentrações médias dos biomarcadores de lesão muscular antes, após e 12 horas depois de um teste de carga retangular a 80% do pico de velocidade nos períodos pré e pós-suplementação no grupo suplementado com vitamina E (n=5)

	Pré teste		Final do teste		Recuperação	
	Pré-supl.	Pós-supl.	Pré-supl.	Pós-supl.	Pré-supl.	Pós-supl.
CK (UI)	263 ± 24	150 ± 29*	326 ± 14	186 ± 37**	314 ± 74	244 ± 68
LDH (UI)	348 ± 79	268 ± 47*	385 ± 66	327 ± 50	327 ± 114	278 ± 58
ALT (UI)	25 ± 14	15 ± 8**	27 ± 15	17 ± 9**	24 ± 13	17 ± 8**
AST (UI)	28 ± 5	22 ± 3*	32 ± 5	26 ± 3*	27 ± 5	22 ± 6

*Diferença significativa ($p < 0,05$) (Teste t de Student),

**Diferença significativa ($p < 0,05$) (Teste de Wilcoxon)

Quando comparamos os resultados pré e pós suplementação em relação a enzima CK, observamos diferença estatisticamente significativa nos momentos pré-teste ($p=0,00$) e final do teste ($p=0,04$) antes e após o período de suplementação com vitamina E no grupo de estudo. Também ocorreu diferença estatisticamente significativa nas concentrações de LDH no momento pré-teste ($p=0,02$) após o período de suplementação com vitamina E.

Em relação às concentrações de ALT, houve diferença estatisticamente significativa nos momentos pré-teste ($p=0,04$), final do teste ($p=0,04$) e na recuperação ($p=0,04$) após o período de suplementação. Também foi verificado diferença significativa nas concentrações de AST nos momentos pré-teste ($p=0,01$) e final do teste ($p=0,00$) após o período de suplementação com vitamina E no grupo de estudo.

4.4 COMPARAÇÃO NO COMPORTAMENTO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DOS BIOMARCADORES DE LESÃO MUSCULAR ENTRE OS GRUPOS SUPLEMENTADOS COM VITAMINA C E VITAMINA E

Não houve diferença significativa nas concentrações de CK, LDH, ALT e AST entre os grupos suplementados com vitamina C e vitamina E em nenhum dos momentos do experimento.

Tabela 10 - Comparação no comportamento das concentrações plasmáticas dos biomarcadores de lesão muscular entre os grupos antes do período de suplementação

	Pré-teste		Final do teste		Recuperação	
	Vit C	Vit E	Vit C	Vit E	Vit C	Vit E
CK (UI)	293 ± 173	263 ± 24	324 ± 187	324 ± 14	264 ± 137	314 ± 74
LDH (UI)	273 ± 25	348 ± 79	342 ± 46	385 ± 66	307 ± 66	327 ± 114
ALT (UI)	18 ± 7	25 ± 14	20 ± 8	27 ± 15	18 ± 8	24 ± 13
AST (UI)	24 ± 7	28 ± 5	29 ± 8	32 ± 5	22 ± 6	27 ± 5

Tabela 11 - Comparação no comportamento das concentrações plasmáticas dos biomarcadores de lesão muscular entre os grupos após a suplementação

	Pré-teste		Final do teste		Recuperação	
	Vit C	Vit E	Vit C	Vit E	Vit C	Vit E
CK (UI)	302 ± 293	150 ± 29	337 ± 319	186 ± 37	369 ± 309	244 ± 68
LDH (UI)	299 ± 59	268 ± 47	326 ± 73	327 ± 50	271 ± 55	278 ± 58
ALT (UI)	19 ± 10	15 ± 8	21 ± 10	17 ± 9	20 ± 9	17 ± 8
AST (UI)	26 ± 11	22 ± 3	28 ± 11	26 ± 3	25 ± 10	22 ± 6

5 DISCUSSÃO

Observações Gerais

Os objetivos desta dissertação foram pautados na possível relação entre a suplementação de vitaminas antioxidantes e as alterações nos parâmetros de biomarcadores de lesão muscular, possivelmente gerados pelo aumento da permeabilidade celular causado pelo aumento de ERO ocasionada pelo exercício. Para isso, partimos das seguintes evidências científicas previamente descritas na literatura:

- A prática de exercícios físicos provoca aumento do fluxo de oxigênio na mitocôndria, e que aproximadamente 2 a 5% deste oxigênio não são completamente reduzidos, formando assim ERO, que causam alterações das membranas celulares (SJÖDIN, WESLING e APPLE, 1990).
- Como resultado ocorrem lesões nas fibras musculares, acompanhadas por um processo inflamatório, o que conduz a uma redução da função muscular com liberação de enzimas musculares, alterações histológicas evidentes e dor muscular (DEKKERS, DOORMEN e KEMPER, 1996).
- A CK, LDH, AST são freqüentemente encontradas como marcadores de dano muscular (BROWN, CHILD, DONNELLY, 1997).
- Destas citadas, a CK é a enzima mais amplamente utilizada para determinação de alterações musculares, sendo considerada um como indicador altamente sensível e específico de lesão muscular, já que os principais tecidos, fontes dessa enzima, são as fibras musculares (CARDINET, 1997).
- Alguns estudos demonstram que a suplementação das vitaminas C e E é capaz de prevenir as lesões celulares, atuando na manutenção da integridade das

membranas e na “varredura” dos RL (BACURAU e ROSA, 2004; BACURAU, 2005).

- Os danos oxidativos podem ser inibidos pela ação antioxidante da vitamina E, juntamente com a glutatona, a vitamina C e os carotenóides, constituindo um dos principais mecanismos da defesa endógena do organismo (MACHLIN, 1992; ROE, 1992; RILEY, 1994).
- O consumo de 500 a 1.500mg/dia de vitamina C e de vitamina E seriam importantes aliados para a preservação do funcionamento adequado do sistema imunológico e para abrandar efeitos deletérios causados pelo aumento dos RL gerados pelo exercício (SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE, 2003).

5.1 EFEITO DO EXERCÍCIO E CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CK, LDH, AST E ALT ANTES DO PERÍODO DE SUPLEMENTAÇÃO

A partir dos resultados encontrados nas concentrações de CK, LDH e ALT antes, após e depois de 12 horas da realização do teste, constatou-se que no grupo 1, o exercício parece não ter influenciado no aumento das concentrações destas enzimas. Entretanto, observou-se que as concentrações de CK já se encontravam elevadas quando comparadas a indivíduos não atletas, sugerindo que estes sujeitos possam apresentar uma adaptação ao exercício. Os valores médios de referência para CK, LDH e ALT são respectivamente < 170 UI, 225 – 450 UI e até 42 UI no repouso.

Em relação ao efeito do exercício a concentração de CK, esperava-se que tivesse ocorrido um aumento significativo no final do teste, mesmo estes indivíduos já apresentando valores elevados deste biomarcador quando comparados a indivíduos não-atletas, conforme estudos prévios de Brancaccio, Maffulli e Limongelli (2007) e de Jaffe, *et al* (1984). Entretanto, se observarmos cada sujeito individualmente, podemos verificar uma tendência no aumento de CK, já que todos os valores ao final do teste encontravam-se mais elevados do que no início. Um dos fatores que pode estar

influenciando estes resultados são os valores dos desvios padrões, que se apresentaram muito elevados.

Ainda neste grupo, antes do período de suplementação, pode-se observar aumento significativo das concentrações de AST ao final do teste, quando comparado aos valores de início do teste, retornando as mesmas aos valores de repouso após 12 horas de recuperação. Embora o exercício tenha influenciado a liberação de AST, as mesmas, mesmo ao final do teste se mantiveram abaixo de 37 UI, limites máximos para indivíduos não atletas. Estes resultados diferem dos achados por Rudolph *et al.* (1993) e Spinha de Toledo *et al.* (2001), que determinaram as variações da atividade de AST após exercícios de curta duração e máxima intensidade e não observaram alterações significativas. Segundo Rose e Hodgson (1983), a utilização da atividade enzimática para avaliar as lesões musculares deve ser feita com cautela, pois não há correlação entre a lesão muscular e a atividade sérica dessa enzima.

Embora a CK seja mais específica para o dano muscular do que a AST, Cardinet (1997) e Perez *et al.* (1997) salientam que a determinação simultânea de AST e CK pode representar um bom potencial diagnóstico e ajuda no prognóstico, em razão das diferentes taxas de desaparecimento de suas atividades no soro ou no plasma. Portanto, este aumento nas concentrações de AST, isoladamente, pode apenas indicar que esta enzima pode ser bastante sensível à ação do exercício, retornando a valores prévios após a de recuperação. Por outro lado, como a CK é uma enzima considerada mais sensível à ação do exercício (BALNAVE e THOMPSON, 1993; BROWN *et al.*, 1997; NOSAKA e CLARKSON, 1994) alguns autores sugerem que quando ocorre aumento de AST na presença de CK normal, pode estar ocorrendo outro tipo de dano que não o muscular, porém é preciso ter muito cuidado nesta afirmação, já que a meia-vida da CK circulante é menor que a da AST (CARDINETT, 1997). Neste sentido, o aumento da AST pode ser reflexo de uma possível sobrecarga hepática em função da demanda metabólica decorrente do exercício realizado.

Quando observamos os resultados do grupo 2, antes da suplementação, o comportamento dos biomarcadores foram um pouco diferentes, sugerindo diferença prévia entre os dois grupos do estudo. Neste grupo, foi observado aumento significativo nas concentrações de CK ao final do exercício não retornando a valores anteriores ao

exercício, mesmo após 12 horas de recuperação, o que corrobora com os achados de Brancaccio, Maffulli e Limongelli (2007) que afirmam que os níveis séricos totais de CK se mantêm elevados mesmo 24 horas após o exercício, retornando gradualmente após este período aos valores basais.

Esta diferença nas concentrações de CK do grupo 1 e 2 pode estar ocorrendo porque a concentração sérica de CK está sujeita à variações fisiológicas que afetam a atividade da enzima (CLARKSON e HUBAL, 2002). Entretanto, conforme já mencionado, os níveis de CK no grupo 1, embora não apresentando evidência de significância estatística entre os períodos avaliados possivelmente decorrente de valores elevados de desvio padrão, também apresentaram uma tendência de elevação ao final do teste. Por esta razão, podemos hipotetizar que os dois grupos apresentaram resultados semelhantes. Neste sentido, os níveis de CK elevados tanto no grupo 1 quanto no grupo 2 ao final do teste e mesmo após 12 horas de recuperação em relação aos valores de referência, são semelhantes a um estudo de JAFFE, *et al* (1984) que encontrou níveis médios de CK em jogadores de futebol de 717 UI mesmo 24 horas após uma competição. Ainda, estudos envolvendo esforços físicos até exaustão têm relatado aumento significativo nas concentrações de CK plasmática imediatamente após exercício em esteira (~137%) em ratos, e três (~74%), 24 (~219%) e 48 h (~129%) após teste incremental até a exaustão, seguido por 15 min de corrida a 110% do limiar anaeróbio individual, previamente determinado, em humanos (NIEES *et al.*, 2002).

Quando verificamos as concentrações plasmáticas de ALT, também observamos aumento significativo no final do exercício em relação ao pré-teste, mesmo em ambos os momentos estas concentrações se mantendo dentro dos valores de referência para sujeitos não atletas.

Quanto às concentrações de AST, houve diminuição significativa entre os momentos final do teste e recuperação, sugerindo uma tendência a diminuição das concentrações de AST após um período de recuperação, porém não ocorreu aumento nas concentrações desta enzima ao final do exercício, diferindo dos achados de Mavrovouniotis *et al.* (2002) também em jogadores de voleibol, que encontrou um aumento nas concentrações de AST de 53 ± 16 UI para 71 ± 17 UI após um jogo de voleibol.

Para as concentrações de LDH, não foi observada influência do exercício no período pré-suplementação, também diferindo do estudo de Mavrovouniotis *et al.* (2002) que demonstrou aumento significativo nas concentrações de LDH de 436 ± 89 UI para 638 ± 151 UI após um jogo de voleibol, mostrando o efeito do exercício sobre a alteração das concentrações desta enzima.

5.2 EFEITO DO EXERCÍCIO E CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CK, LDH, AST E ALT APÓS O PERÍODO DE SUPLEMENTAÇÃO.

Após o período de suplementação com vitamina C, foi observado aumento significativo nas concentrações de CK no final do teste em relação ao momento pré-teste e entre os momentos pré-teste e recuperação, indicando que o exercício está influenciando o aumento nas concentrações de CK e que a mesma continua aumentando até 12 horas após o final do exercício. Estes achados podem indicar que a suplementação com vitamina C neste grupo, parece não ter influenciado as concentrações de CK, já que se esperava que após a suplementação com vitamina C, tivesse ocorrido uma diminuição nos níveis de CK, mesmo prévios ao teste, ou que a mesma não se alterasse ao final do teste. E, além disso, pode-se verificar uma tendência a valores superiores aos encontrados no mesmo grupo antes do período de suplementação. Isto o que pode ser explicado pelo aumento da exigência da competição que os atletas estavam participando e pela possível falta de ação da vitamina C neste grupo.

O mesmo ocorreu em relação às concentrações de ALT e AST, reforçando que a vitamina C parece não estar influenciando nas concentrações destes biomarcadores, ou seja, não exercendo o efeito protetor das membranas celulares sugeridos por Carr e Frei (1999).

O grupo suplementado com vitamina E apresentou aumento significativo nas concentrações de CK no final do teste em relação ao pré-teste após o período de suplementação, e estes valores continuaram a aumentar mesmo após 12 horas de recuperação. Contudo, altos níveis séricos de CK em sujeitos aparentemente saudáveis pode estar relacionado com o nível de treinamento, e dele depende o dano no

sarcômero. Além disso, exercícios extenuantes causadores de danos na musculatura esquelética podem resultar em aumento sérico de CK total (BRANCACCIO, MAFFULLI e LIMONGELLI, 2007). Por outro lado, apesar de a concentração de CK ter aumentado no final do teste após a suplementação com vitamina E, os valores obtidos para esta variável bioquímica foram estatisticamente menores em comparação ao período pré-suplementação, tanto no momento pré-teste como no final do teste.

Além disso, este aumento nos níveis de CK no plasma pode ser o resultado de alterações da membrana da célula muscular, possivelmente devido a reações de hipóxia e isquemia muscular decorrentes do exercício exaustivo, bem como da ação do aumento de cálcio intracelular ativando proteases dependentes de cálcio (MOREAU *et al.*, 1995). Ainda, evidências experimentais ressaltam que a elevação de CK sangüínea não necessariamente reflete quantia de lesão histológica, podendo sugerir mudanças em permeabilidade da membrana celular (VAN DER MEULEN *et al.*, 1991).

Diferente das concentrações de CK que continuam aumentando após 12 horas de exercício, as concentrações de AST aumentaram significativamente no final do teste em relação ao pré-teste, porém, no período de recuperação tiveram uma redução significativa. Estes dados são semelhantes aos resultados encontrados no mesmo grupo no período anterior à suplementação, o que pode estar indicando apenas indicar que esta enzima pode ser bastante sensível à ação do exercício, retornando a valores prévios após o período de recuperação.

Semelhante às concentrações de CK, que foram estatisticamente menores em comparação ao período pré-suplementação, tanto no momento pré-teste como no final do teste, as concentrações de LDH e AST também apresentaram valores estatisticamente inferiores aos do período pré-suplementação.

5.3 COMPARAÇÕES NAS CONCENTRAÇÕES CK, LDH, AST E ALT ANTES A APÓS A SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA C E VITAMINA E

Reiterando o citado anteriormente, no grupo suplementado com vitamina C não houve qualquer diferença nas médias das concentrações de CK, LDH, AST ou ALT

quando comparados aos pares os momentos pré-teste, final do teste e recuperação antes e após o período de suplementação.

Em relação às concentrações de CK após o período de suplementação com vitamina E, foi observada diferença estatisticamente significativa nos momentos pré-teste e final do teste. De acordo com Beaton *et al* (2002), como o aumento das concentrações plasmáticas de CK pode ser utilizado, também, como indicador de estresse durante protocolos de esforços predominantemente anaeróbios, pode-se dizer que a suplementação com vitamina E parece ter exercido um efeito protetor em relação a este estresse. Neste sentido, a vitamina E pode estar sendo uma importante aliada para a preservação do funcionamento adequado do sistema imunológico e para abrandar efeitos deletérios causados pelo aumento dos RL gerados pelo exercício, já que nenhum dos sujeitos da pesquisa foi afastado por ocorrência de lesões durante o período do estudo. Vale ainda ressaltar que estudos que empregaram medidas, imediatas ou tardias, de CK apresentam resultados conflitantes.

Entretanto, a redução nas concentrações de CK, pode também ser atribuída um programa de treinamento adequado, ajustado ao condicionamento físico do atleta, sugerindo que os indivíduos podem estar mais adaptados ao programa de exercícios aos quais estão sendo submetidos. Estes dados são demonstrados em eqüinos e sugere-se que esta adaptação também ocorra em humanos (DA CÁS *et al* 2000). Corroborando, Löfstedt e Collatos (1997) também referiram que o treinamento diário diminui os efeitos provocados pelo exercício, incluindo a elevação das concentrações séricas das enzimas CK e AST.

Também ocorreu diferença estatisticamente significativa nas concentrações de LDH no momento pré-teste antes e após o período de suplementação com vitamina E. Antes de sugerirmos o efeito protetor da vitamina E, devemos mencionar que a enzima LDH é menos específica do que a CK e AST nas lesões musculares. Além disso, aumentos de maior magnitude de LDH em eqüinos, durante prova de enduro, mostraram que a duração e intensidade são importantes para determinar o aumento desta enzima durante o exercício (ROSE *et al.*, 1994).

Em relação às concentrações de ALT, houve diferença estatisticamente significativa nos momentos pré-teste, final do teste e na recuperação antes e após o

período de suplementação. Entretanto, não encontramos na literatura outros estudos demonstrando a relação desta enzima e lesão muscular, sendo considerada um excelente marcador hepatocelular. Por outro lado, acredita-se, que por ser uma enzima também presente na musculatura esquelética, embora em pequenas quantidades, diminuição nas concentrações desta enzima, pode estar refletindo diminuição na permeabilidade da membrana celular.

Após o período de suplementação com vitamina E, também foi verificada diferença significativa nas concentrações de AST nos momentos pré-teste e final do teste. As concentrações de AST podem ser influenciadas pela fase de treinamento e pelo tipo de exercício, segundo Löfstedt e Collatos (1997). O exercício libera quantidades de AST suficientes para aumentar os valores séricos (STOCKHAM, 1995).

Entretanto, no momento pré-teste e final do teste estes valores foram significativamente menores do que no período pré-suplementação. Este efeito poderia estar sendo atribuído a dois fatores. Primeiramente que a vitamina E estaria contribuindo para uma diminuição na permeabilidade celular e das membranas intracelulares, principalmente mitocondrial ou que, segundo Rudolph *et al.* (1993), o próprio treinamento acarretaria adaptação de órgãos e tecidos caracterizada por diminuição da liberação das enzimas para a circulação.

Ainda, é importante salientar que, quando comparamos as concentrações de CK, LDH, ALT e AST entre os grupos suplementados com vitamina C e vitamina E, apesar de não ter havido diferença estatisticamente significativa entre os grupos em nenhum dos momentos do experimento (tabelas 10 e 11), o grupo suplementado com vitamina E apresentou uma tendência de redução dos parâmetros bioquímicos contribuindo para a afirmação dos resultados positivos referentes a esta vitamina encontrados no estudo.

Não podemos deixar de citar ainda que, muitas vezes, a elevação da atividade sérica de enzimas musculares pode superestimar possíveis lesões musculares. As elevações das atividades enzimáticas encontradas podem ser consideradas de pequena magnitude e predominantemente decorrentes do processo de aumento da permeabilidade da membrana celular e não de sua ruptura, entretanto, não podemos descartar os resultados prévios de estudos envolvendo antioxidantes e seu papel no combate as RL gerados pelo exercício.

Das variáveis analisadas a alteração mais consistente foi o aumento dos valores séricos de CK. A maior porcentagem de elevação da enzima CK em relação a AST e ALT pode ser explicada pela localização das enzimas nas células da musculatura esquelética. Como a CK está presente no citossol celular, o aumento da permeabilidade da membrana, decorrente ou do aumento de ERO ou de uma adaptação ao exercício, fez com que maior quantidade dessas enzimas fosse transportada para a circulação. Já a concentração sérica da AST foi interpretada levando-se em consideração a sua localização também nas mitocôndrias, e como se considerou a elevação das enzimas decorrente do aumento da permeabilidade da membrana celular, a pequena elevação da AST pode ter sido relacionada com a lesão de pequena magnitude das mitocôndrias.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos e discussão, pode-se concluir que:

- O exercício pode aumentar a liberação de CK e o esperado é que mesmo após 12 horas de recuperação estes valores continuem aumentando, pois esta enzima pode ter um pico em até 24 ou 48 horas após a realização da atividade.
- A enzima LDH parece ser menos influenciada pela ação do exercício, embora as concentrações tendam a estar mais elevadas no final do exercício.
- A liberação de ALT também tende a aumentar ao final do exercício, porém após 12 horas de recuperação, retorna aos valores de repouso.
- O exercício também influencia a liberação de AST, que aumenta ao final da atividade, e retorna a valores prévios após 12 horas de recuperação.

O grupo suplementado com vitamina E, apresentou as concentrações de biomarcadores de lesão muscular menores do que no período pré-suplementação e, como estes parâmetros bioquímicos podem ser utilizados como indicadores de estresse durante protocolos de esforços predominantemente anaeróbios, pode-se dizer que a suplementação com vitamina E parece ter exercido um efeito protetor em relação a este estresse. Podemos inferir ainda que a vitamina E pode estar sendo uma importante aliada para amenizar os efeitos deletérios causados pelo aumento dos RL gerados pelo exercício nestes indivíduos.

A partir dos resultados e discussão apresentados, pode-se dizer que a relação entre exercício físico, biomarcadores de lesão muscular e vitaminas antioxidantes ainda não está bem estabelecida. Assim, o uso de vitaminas e outros antioxidantes na prevenção e modulação das conseqüências patológicas ao ataque exercício-induzido nas membranas celulares precisa da definição de doses e de protocolo de tratamento, sendo necessários mais estudos sobre o mecanismo de ação desses agentes antes da sua prescrição em larga escala.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALESSIO, H. M. Exercise-induced oxidative stress. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 25, n. 2, p. 218-224, 1993.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, v. 350, n.1, p. 103-108, 1996.

APPLE, F. S.; HELLSTEN, Y.; CLARKSON, P. M. Early detection of skeletal muscle injury by assay of creatine kinase MM isoforms in serum after acute exercise. **Clinical Chemistry**, v. 32, p. 41-44, 1988.

APPLEGATE, E. A.; GRIVETTI, L.E. Search for the Competitive Edge: A History of Dietary Fads and Supplements. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 869S-873S, 1997.

ARMSTRONG, R. B. Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 16, n. 3, p.529-538, 1984.

ARMSTRONG, R. B.; OGILVIE, R. W.; SCHWANE, J. A. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 54, n. 1, p. 80-93, 1983.

ASTRÄND, P. O; RODAHL, K. **Textbook of work physiology: physiological basis of exercise**. New York: McGraw-Hill, 1986.

AVILA, R. C. P.; FERNANDES, G. Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissue in mice by moderate treadmill exercise. **Aging**, v. 11, n. 4, p. 246-252, 1999.

BACURAU, R. F. P.; ROSA, L. F. B. P. C. Produção de Espécies Reativas de Oxigênio Durante a Atividade Motora e Mecanismos de Defesa. *In*: LANCHETA JR, A. H. **Nutrição e Metabolismo aplicados à atividade motora**. São Paulo: Atheneu, 2004.

BACURAU, R.F. **Nutrição e Suplementação Esportiva**. 3. ed. São Paulo: Phorte, 2005.

BALNAVE, C. D.; THOMPSON, M. W. Effect of training on eccentric exercise-induced muscle damage. **Journal of Applied Physiology**, v.75, p. 1545-1551, 1993.

BALOGH, N. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. **Veterinary Clinical Pathology**. v. 30, n. 4, p. 214-218, 2001.

BEATON, L.J.; ALLAN, D. A.; TARNOPOLSKY, M. A.; TIIDUS, P.M.; PHILLIPS, S.M.; Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 34, n. 5, p. 798-805, 2002.

BECKMAN, K. B.; AMES, B. N. The free radical theory of aging matures. **Physiological Reviews**, Bethesda, v.78, n. 2, p. 547- 581, 1998.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais Livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista Nutrição**, v.12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BIANCHINI-PONTUSCHKA, R.; CAMARGO PENTEADO, M. V. C. Vitamina B6. *In*: PENTEADO, M. V. C. **Vitaminas**. Barueri: Manole, 2003. 612p.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; LIMONGELLI, F. M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. **British Medical Bulletin**, v. 81-82, n. 1, p. 209-230, 2007.

BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; KELLY, F. J.; SALONEN, J. T.; NEUZIL, J.; ZINGG, J.M.; AZZI, A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 4, p. 703-716, 2002.

BRINER, W. W.; BENJAMIM, H. J. Managing Acute and Overuse Disorders. **The Physician and Sports Medicine**. v. 27, n. 3, p. 48, 1999.

BROWN, S. J. et al. Indices of skeletal muscle damage and connective tissue breakdown following eccentric muscle contractions. **European Journal of Applied Physiology**. v. 75, p. 369-374, 1997.

BROWN, S. J; CHILD, S. H; DONNELLY, A. E. Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptations following repeated bouts of eccentric muscle contractions. **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 15, p. 215-222, 1997.

BUDGETT, R.; NEWSHOLME, E.; LEHMANN, M.; SHARP, C.; JONES, D.; PETO, T.; COLLINS, D.; NERURKA, R. R.; WHITE, P. Redefining the overtraining syndrome as

the unexplained underperformance syndrome. **British Journal of Sports Medicine**, v. 34, p. 67-68, 2000.

CAMPBELL, D. T.; STANLEY, J. C. **Delineamentos experimentais e quase-experimentais de pesquisa**. São Paulo: EPU, 1979. 138 p.

CARAGAY, A. B. Cancer preventive foods and ingredients. **Food Technology**, v.46, p.65-68, 1992.

CARDINET III, G. H. **Skeletal Muscle Function**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 407-440.

CARMINATTI, L. J., LIMA-SILVA, A. E.; DE-OLIVEIRA, F. R. Aptidão Aeróbia em Esportes Intermitentes – Evidências de validade de Construto e Resultados em Testes Progressivos com Pausas. **Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício**, v. 3, n. 1, p. 120, 2004.

CARR, A. C.; FREI, B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 1086-1107, 1999.

CARVALHO, O. M. Técnica do ensino para iniciante. **Sprint Magazine**. Ano XI, nº 63, nov-dez. Rio de Janeiro, 1992, p. 22 - 30.

CHIAPPA, G. R. **Fisioterapia nas Lesões do Voleibol. Abordagem das principais lesões, seus tipos, fatores biomecânicos**. São Paulo: Editora Robe, 2001.

CHILDS, A.; JACOBS, C.; KAMINSKI, T.; HALLIWELL, B.; LEEUWENBURGH, C.; Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 6, p. 745-753, 2001.

CLARKSON, P. M. Eccentric exercise and muscle damage. **International Journal of Sports Medicine**, v.18, n.4, p. 314-317, 1997.

CLARKSON, P. M.; THOMPSON, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **American Journal of Clinical Nutrition**; v. 72, p. 637-647, 2000.

CLARKSON, P. M.; TREMBLAY, I. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptations in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 65, p. 1-6, 1988.

CLARKSON, P. M.; HUBAL, M. J. Exercise-induced Muscle Damage in Humans. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 81, p. S52-S69, 2002.

COMPORTI M.; SIGNORI C.; BUONOCORE G.; CICCOLI L. Iron release, oxidative stress and erythrocyte ageing. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, p. 568-577, 2002.

CRISWELL, D.; POWERS, S.; DODD, S.; LAWLER, J.; EDWARDS, W.; RENSHLER, K., *et al.*. High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 11, p. 1135-1140, 1993.

DA CÁS, E.L.; ROSAURO, A.C.; SILVA, C.A.M.; BRASS, K.E. Concentração sérica das enzimas creatinoquinase, aspartato aminotransferase e dehidrogenase láctica em eqüinos da raça Crioula. **Ciência Rural**, v.30, p.625-629, 2000.

DAL PAI, V. Esporte e lesão muscular. **Revista Brasileira Neurológica**, v. 30, n. 2, p. 45-48, 1994.

DAVIES, K. J. A.; QUINTANILHA, A. T.; BROOKS, G. A.; PACKER, L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 107, n. 4, p. 1198-1205, 1982.

DEKKERS J. C.; DOORMER, L. J. P.; KEMPER, H. C. G. The Role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. **Sports Medicine**, v. 21, p. 213-238, 1996.

DUARTE, J. A. R. **Lesões celulares do músculo esquelético induzidas pelo exercício físico**. 1993. Tese (Doutoramento em Ciências do Desporto) - Faculdades de Ciências do Desporto e de Educação Física, Universidade do Porto, Porto, Portugal, 1993.

DUARTE, J. A.; CARVALHO, F.; BASTOS, M. L. Do invading leucocytes contribute to the decrease in glutathione concentrations indicating oxidative stress in exercised muscle, or are they important for its recovery? **European Journal of Applied Physiology**, v. 68, p. 48-53, 1994.

Escola Paulista de Medicina, UNIFESP. **Sistema de apoio à decisão em Nutrição - Nutri** [programa de computador]. Versão 2.5 CIS, São Paulo; 2000.

EVANS, P.; HALLIWEL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. **British Journal of Nutrition**. v. 85, p. 567-574, 2001.

FABER, M.; COUDRAY, C.; HIDA, H.; MOUSSEAU, M.; FAVIER, A. Lipid peroxidation products and vitamin and trace element status in patients with cancer before and after chemotherapy including adriamycin, a preliminary study. **Biological Trace Element Research**, v. 47(1/3), p. 117-123, 1995.

FARINA, E. C. R.; MANSOLDO, A. C. Incidência das lesões em atletas federadas nas categorias de base do voleibol no Estado de São Paulo. **Revista Digital**. n. 101, 2006. Disponível em : www.efdsportes.com , Acesso em: 20 out. 2006.

FAULKNER, J. A.; BROOKS, S. V.; OPITECK, J. A. Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention. **Physical Therapy**, v. 73, n. 12, p. 911-921, 1993.

FERREIRA, A. B. H. **Novo Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa**. São Paulo: Nova Fronteira, 1986.

FERRETI, A. **Volleyball Injuries - A colour Atlas of Volleyball Traumatology**. Federation International of Volleyball, 1996.

FITTS, R. H. Muscle fatigue: the cellular aspects. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 24, n. 6, p. 9-13, 1996.

FOSS, M. L.; KETEYIAN, S. J. **Fox: Bases da fisiologia do exercício e do esporte**. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2000.

FOX, E. L; BOWERS, R. W; FOSS, M. L. **Bases fisiológicas da educação física e dos desportos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

FRANKIEWICZ-JOZKO, A; FAFF, J.; SIERADZAN-GABELSKA, B. Changes in concentration of tissues free radical marker and serum creatine kinase during the post-exercise period in rats. **European Journal of Applied Physiology**, v. 74, p. 470-474, 1996.

FREDERICKS, S.; MURRAY, J. F.; CARTER, N. D.; CHESSER, A. M. S.; PAPACHRISTOU, S.; YAQOUB, M. ; et al. Cardiac Troponin T and Creatine Kinase MB Content in Skeletal Muscle of the Uremic Rat. **Clinical Chemistry**, v. 48, p. 859-868, 2002.

FRIDÉN, J.; LIEBER, R. L. Segmental muscle fiber lesions after repetitive eccentric contractions. **Cell and Tissue Research**, v. 293, p. 165-171, 1998.

FRIDÉN, J.; SJOSTROM, M.; EKBLÖM, B. Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. **International Journal of Sports Medicine**, v. 4, n. 3, p. 170-176, 1983.

GARCIA, M.; GUZMAN, R.; CABEZAS, I.; MERINO, V.; PALMA, C.; PEREZ, R. Evaluación del entrenamiento tradicional del caballo criollo chileno de rodeo mediante el análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguíneas. **Archivos de Medicina veterinaria**. V. 31, N. 2; P. 167-176, 1999.

GARRETT JÚNIOR, W. E. Muscle strain injuries. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 24, n. 6, p. 2-8, 1996.

GELLA, J. Enzimología Clínica. *In*: SASTRE, F. G. **Bioquímica Clínica**, Barcelona: Barcanova, 1994. p. 113-124.

GOLDFARB, A. H. Antioxidants: Role of supplementation to prevent exercise induced oxidative stress. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 25, p. 232-236, 1993.

GOLDFARB, A. H. Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 24, p. 249-266, 1999.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiología médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 2, p. 253-265, 1994.

HATCKOCK, J. N. Vitamins and minerals: efficacy and safety. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, p. 427-437, 1997.

HELLSTEN, Y.; FRANDBSEN, U.; ORTHENBLAD, N. Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. **Journal of Physiology**, v. 498, n. 1, p. 239-248, 1997.

HORNIG, D. Metabolism and requirements of ascorbic acid in man. **South African Medical Journal**, v. 60, n.21, p. 818-823, 1981.

HORTOBÁGYI, T.; HOUMARD, J.; FRASER, D.; DUDEK, R.; LAMBERT, J.; TRACY, J. Normal forces and myofibrillar disruption after repeated eccentric exercise. **Journal Applied Physiology**, v. 84, p. 492-498, 1998.

INGESTÃO DIETÉTICA DE REFERÊNCIA (RDIs) disponível em <http://www.nap.edu> , acesso em outubro de 2006.

International Federation of Clinical Chemistry **Clinica Chimica Acta** v. 105 p. 147, 1980.

JACOB, M. J. The integrated antioxidants systems. **Nutrition Research**, v. 15, p. 755-765, 1985.

JACOBS, I.; ESBJÖRNSSON, M.; SYLVÉN, C.; HOLM, I.; JANSSON, E. Sprint training effects on muscle myoglobin, enzymes, fibres types and blood lactate. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 19, p. 368-374, 1987.

JAFFE, A. S.; GARFINKEL, B.T.; RITTER, C.S.; SOBEL, B.E. Plasma MB creatine kinase after vigorous exercise in professional athletes. **The American Journal of Cardiology**, v. 53, p. 856-858, 1984.

JENKINS, R. R.; GOLDFARB, A. Introduction: oxidative stress, aging, and exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 25, n. 2, p. 210-212, 1993.

JOHNSON, M. B.; THIESE, S. M. A review of overtraining syndrome: recognizing the signs and symptoms. **Journal of Athletic Training**, v. 27, n. 04, p. 352-354, 1992.

KIBLER, W. B.; CHANDLER, T. J.; STRACENER, E. S. Musculokeletal adaptations and injuries due to overtraining. **Exercise and Sports Sciences Reviews**, v. 20, p. 99-127, 1992.

KONG, Q; LILLEHEI, K.O. Antioxidant inhibitors for cancer therapy. **Medical Hypotheses**, v. 51, p. 405-409, 1998.

KRUMBACH, C. J.; ELLIS, D. R.; DRISKELL, J. A report of vitamin and mineral supplement use among university athletes in a division I institution. **International Journal of Clinical Nutrition**, v. 9, n. 4, p. 416-425, 1999.

KUIPERS, H. Training and overtraining: an introduction. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 30, n. 07, p. 1137-1139, 1998.

KUIPERS, H.; VERSTAPPEN, F. T.; KEIZER, H. A.; GEURTEN, P.; VAN K. G. Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiologic correlates. **International Journal of Sports Medicine**, v.6, p. 197-201, 1985.

LANG, H.; WURZBURG, U. Creatine kinase, na enzyme of many forms. **Clinical Chemistry**, v. 28, p. 1439-1447, 1982.

LEDERE, J. **Alimentação e câncer**. 3. ed. São Paulo: Manole Dois, 1990.

LEHMANN, M.; FOSTER, C.; DICKHUTH, H. H.; GASTMANN, U. Autonomic imbalance hypothesis and overtraining syndrome. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 30, n. 07, p. 1140-1148, 1998.

LEHNINGER A. L.; NELSON D. L.; COX M. M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 1998, p.41-60.

LÖFSTEDT, J.; COLLATOS, C. Creatinekinase and aspartate aminotransferase concentrations. **The Veterinary Clinics of North American- Equine Practice**, Philadelphia, v. 13, p. 145-68, 1997.

LOHMAN, T. G. **Advances in body composition assessment**. Human Kinetics Publishers, Champaign, IL, 1992.

MACHLIN, L. J. Introduction. **Annals of the New York Academy Sciences**, New York, v.669, n.4, p.1-6, 1992.

MALTA, M.; NASCIMENTO, L. F. Prevenção no Vôlei é um Caminho para o Alto Nível. **Vôlei Técnico**. n. 3, p. 21-26, 1995.

MANNRICH, G; PIASECKI, F; CAMBRI, L. T.; SOUZA, M., LIMA-SILVA, A. E. ; CRUZ, R. O.; GEVAERD, M. G. Marcadores Bioquímicos e lesões musculares em atletas profissionais de futebol. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, n. 4, p. 175-175, 2005a.

MANNRICH, G; PIASECKI, F; CAMBRI, L. T.; SOUZA, M., LIMA-SILVA, A. E. ; CRUZ, R. O.; GEVAERD, M. G. Marcadores Bioquímicos e Lesões Ortopédicas em Atletas de Futebol, **Edição Especial da Revista Perfil**, v. 8, ano 7, p. 53-53, 2005b.

MARQUES, A. P. **Cadeias Musculares: Um Programa para Ensinar Avaliação Fisioterapêutica Global**. São Paulo: Manole, 2000.

MATSUDO, V. K. R. Lesões ósteo-musculares e a prática da aeróbica. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 4, n. 2, p. 62-70, 1990.

MAVROVOUNIOTIS, F.; ARGIRIADOU, I.; MAVROVOUNIOTIS, C.; HARITONIDIS, K. Serum Enzyme Changes Following a Volleyball Game in Adolescent Players. **Österreichisches Journal für Sportmedizin**, v. 4, p. 6-10, 2002.

MAXWELL, S. R. J. Prospects for the use antioxidant therapies. **Drugs**, v. 49, p. 345-361, 1995.

MELO, R. S. **Esportes de quadra**. Rio de Janeiro: Srint, 2001.

MOREAU, D.; DUBOTS, P.; BOGGIO, V. Effects of electromyostimulation and strength training on muscle soreness, muscle damage and sympathetic activation. **Journal of Sports Sciences**, v. 13, p. 95-100, 1995.

MUINDI, J. R. F. Retinoids in clinical cancer therapy. **Cancer Treatment and Research Journal**, v. 87, p. 305-342, 1996.

NISS, A.M.; FEHRENBACH, E.; SCHLOTZ, E.; SOMMER, M.; ANGRES, C.; TSCHOSITSCH, K. et al. Effects of RRR- α -tocopherol on leukocyte expression of HSP72 in response to exhaustive treadmill exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 23, n. 6, p. 445-452, 2002.

NISHIKIMI, M. R.; FUKUYAMA, S.; MINOSHIMA, N. Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonono-gamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n.18, p. 13685-13688, 1994.

NOAKES, T. D. Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. **Sports Medicine**, v. 4, n. 4, p. 245-67, 1987.

NOSAKA, K.; CLARKSON, P. M. Effect of eccentric exercise on plasma enzyme activities previously elevated by eccentric exercise. **European Journal of Applied Physiology**. v. 69, p. 492-497, 1994.

NOSAKA, K.; CLARKSON, P. M. Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 27, p. 1263-1269, 1995.

NOSAKA, K.; NEWTON, M. Concentric or eccentric training effect on eccentric exercise-induced muscle damage. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 34, p. 63-69, 2002.

NOSAKA, K.; NEWTON, M. Repeated eccentric bouts do not exacerbate muscle damage and repair. **The Journal of Strength and Conditioning Research** v. 16, p. 117-122, 2002.

NOSAKA, K.; NEWTON, M.; SACCO, P.; CHAPMAN, D.; LAVENDER, A. Partial protection against muscle damage by eccentric actions at short muscle lengths. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 37, p. 746-753, 2005.

PAULING, L. Evolution and the need for ascorbic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 67, n. 4, p. 1643-1648, 1970.

PEDRINELLI, A.; SAITO, M. **Lesões no Voleibol**. 2002. Disponível em: <http://www.personalfit.com.br/artigos.asp?tit=artigo&artigo=493>. Acesso em: 25 jul 2005.

PEREIRA, B.; COSTA ROSA, L. F. P. B.; BECHARA, E. J. H.; CURI, R. Antioxidant enzymes in the lymphoid organs and macrophages of rats trained to moderate exercise. **Ciência e Cultura**, v. 48, p. 43-46, 1996.

PEREZ, R.; GARCIA, M.; CABEZAS, I.; GUZMAN, M. V.; MERINO, V.; VALENZUELA, S.; GONZALEZ, C. Actividad física y cambios cardiovasculares y bioquímicos del caballo chileno a la competencia de rodeo. **Archivos de Medicina veterinária** v. 29, n. 2, p. 221-234, 1997.

PINNEL, S.R.; MURAD, S.; DARR, D. Induction of collagen synthesis by ascorbic acid. A possible mechanism. **Archives of Dermatology**, v. 23, n. 12, p. 1684-1686, 1987.

PINTO, S. S.; CASTILLO, A. A. Lesão Muscular: Fisiopatologia e Tratamento. **Revista Fisioterapia em Movimento**, v. 12, n. 2, p. 23-36, 1998.

PRYOR, W. A.; GODBER, S. S. Noninvasive measures of oxidative stress status in human. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 10, p. 177-184, 1991.

PYNE, D. B. Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. **Australian Journal of Science in Medicine Sports**, R6, p. 49-58, 1994.

RADÁK, Z.; TAHARA, S.; NAKAMOTO, H.; OHNO, H.; SASVÁRI, M.; NYAKAS, C.; GOTO, S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins and

DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 27, p. 69-74, 1999.

REID, M. B. Reactive oxygen and nitric oxide in skeletal muscle. **News of Physiology and Science**, v. 11, p. 114-119, 1996.

RILEY, P.A. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. **International Journal of Radiation Biology**, v. 65, n. 1, p. 27-33, 1994.

ROE, D. A. Effects of drugs on vitamins needs. **Annals of the New York Academy Sciences**, v. 669, p.156- 163, 1992.

ROKITZKI , L.; HINKEL , S.; KLEMP , C.; CUFI , D.; KEUL, J. Dietary, serum and urine ascorbic acid status in male athletes. **International Journal of Sports and Medicine**. v. 15, n. 7, p. 435-440, 1994.

RONCADA, M. J. Vitaminas Lipossolúveis. *In*: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E. **Ciências Nutricionais**. Sarvier: São Paulo, 1998.

ROSE, R. J.; ALLEN, J. R.; HODGSON, D. R.; STEWART, J. H. Responses to submaximal treadmill exercise in the horses: Changes in hematology, arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate. **The Veterinary Record**, v. 113, p. 612-18, 1983.

RUDOLPH, W.; GOIC, M.; MATTA, S.; SEGOVIA, P. Variación de las isoenzimas de hidrogenasa láctica posterior a um ejercicio en equinos fina sangre de carrera con diferentes períodos entrenamiento. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 25, p. 57-65, 1993.

SANTOS K. M. O.; BARROS FILHO, A. A. Use of vitamin supplements among university students in São Paulo, Brazil. **Revista de Saúde Pública**. v.36, n.2, 2002.

SAXTON, J. M.; DONNELLY, A. E.; ROPER, H. P. Indices of free radical-mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work. **Journal of Applied Physiology**, v. 68, p. 189-193, 1994.

Scandinavian Society for Clinical Chemistry (SSCC) **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**. v. 33, p. 291, 1974.

SEN, C. Oxidants and antioxidants in exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 79, n. 3, p. 675-686, 1995.

SIES, H. Strategies of antioxidant defenses. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, p. 213-219, 1993.

SINATRA, S. T.; DEMARCO, J. Free radicals, oxidative stress, oxidized low density lipoprotein (LDL), and the heart: antioxidants and other strategies to limit cardiovascular damage. **Connecticut Medicine**. v. 59, n. 10, p. 579-588, 1995.

SJÖDIN, B.; WESLING, H.; APPLE, S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. **Sports Medicine**, v. 10, p. 236-254, 1990.

SMITH, L. L.; FULMER, M. G.; HOLBERT, D.; MCCAMMON, M. R.; HOUMARD, J. A.; FRAZER, D. D.; et al. The impact of a repeated bout of eccentric exercise on muscular strength, muscle soreness and creatine kinase. **British Journal of Sports Medicine**, v. 28, p. 267-271, 1994.

SMOLKA, M. B.; ZOPPI, C. C.; ALVES, A. A.; SILVEIRA, L. R.; MARANGONI, S.; PEREIRA-DA-SILVA, L.; NOVELLO, J. C.; MACEDO, D. V. HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. **American Journal of Physiology**, v. 279, p. 1539-1545, 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO ESPORTE - SMBE. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos à saúde. Diretriz da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v.9, n.2, p. 1-13, 2003.

SPINHA DE TOLEDO, P.; DOMINGUES JÚNIOR, M.; FERNANDES, W. R.; MAGONE, M. Atividade sérica de aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gamaglutamil transeferase, lactato desidrogenase e glicemia de cavalos da raça PSI submetidos a exercícios de diferentes intensidades. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 8, n. 2, p. 73-7, 2001.

STOCKHAM, S.L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.11, p.391-414, 1995.

STOHS, S. J. The role free radicals in toxicity and disease. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 6, p. 205-228, 1996.

STRAIN, J. J.; BENZIE, I. F. F. **Antioxidants**. In: Encyclopedia of Human Nutrition. New York: Academic Press, 1998. p. 95-105.

STRYER, L. **Bioquímica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.

TADICH, N., GALLO, C. ALVARADO, M. Efectos de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés em bovinos. **Archivos de Medicina veterinária**. v. 32, n. 2, p. 171-183, 2000.

TAKANAMI, Y.; IWANE, H.; KAWAI, Y.; SHIMOMITSU, T. Vitamin E supplementation and endurance exercise: are there benefits? **Sports Medicine**. v. 29, n. 2, p. 73-83, 2000.

TENENBAUM, G. Theoretical and practical considerations in investigating motivation and discomfort during prolonged exercise. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 36, n. 03, p. 145-154, 1996.

THOMAS, J. R; NELSON, J. K. **Métodos de Pesquisa em Atividade Física**. 3.ed. São Paulo: ArtMed, 2002.

THOMPSON, K. H.; GODIN, D. V. Micronutrientes and antioxidants in the progression of diabetes. **Nutrition Research**, São Francisco, v. 15, n. 9, p. 377-410, 1995.

TIIDUS, P. M. Radical species in inflammation and overtraining. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 76, p. 533-538, 1998.

TRABER, M. G. Vitamina E. *In*: SHILS, M. E. et al. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. Manole: Barueri, 2003.

VAN DER MEULEN, J. H.; KUIPERS, H.; DRUKKER, J. Relationship between exercise induced muscle damage and enzyme release in rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 71, n. 03, p. 999-1004, 1991.

VOLFINGER, L. V.; LASSOURD, J. M.; MICHAUX, J. P.; BRAUN, J. P.; TOURTAIN, P. L. Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released. **American Journal of Physiology**, v. 35, p. R434-R441, 1994.

WARREN, G. L.; INGALLS, C. P.; LOWE, D. A.; ARMSTRONG, R. B. Excitation contraction uncoupling: major role in contractions induced muscle injury. **Exercise and Sport Sciences Reviews**. v. 29, p.82-87, 2001.

WELCH, K. D.; DAVIS, T. Z.; VAN EDEN, M. E., AUST, S. D. Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, p. 577-583, 2002.

WESTGARD, J. O.; BARRY, P. L.; HUNT, M.R.; GROTH, T. A multi-rule Shewhart chart quality control in clinical chemistry. **Clinical Chemistry**, v. 27, p. 493-501, 1981.

WILLOUGHBY, D. S.; VANENK, C.; TAYLOR, L. Effects of concentric and eccentric contractions on exercise induced muscle injury, inflammation, and serum IL-6. **Journal of Exercise Physiology**, v. 6, p. 8-15, 2003.

WILLS, E. D. Mechanism of lipid peroxide formation un animal tissues. **Biochemical Journal**, v. 99, n. 5, p. 667-676, 1966.

YAGI, K. A. A simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma. **Biochemistry and Medicine**, v. 15, p. 212-216, 1976.

YU, B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological Reviews**. v. 74, n. 1, p.139-162, 1994.

ZOPPI, C. C.; ANTUNES-NETO, J.; CATANHO, F. O.; GOULART, L. F.; MOTTA E MOURA, N.; MACEDO, D. V. Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa oxidante e lesão muscular em jogadores de futebol. **Revista Paulista de Educação Física**, v. 17, n. 2, p. 119-130, 2003.

ANEXOS



ANEXO 1
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E DESPORTOS - CEFID



Equipe: CIMED

Mestranda: Michele de Souza

Atleta: _____

Data: __ / __ / __

Questões referentes ao estudo

1. Nos últimos 30 dias você modificou seus hábitos alimentares?

() Sim () Não Se sim, como?

2. Teve alguma alteração de peso recente?

() Sim () Não

Se sim, quantos quilos?

3. Fez ou está fazendo alguma dieta específica nos últimos 30 dias?

() Sim () Não

Se sim qual a finalidade? _____

3. Utiliza atualmente ou está já utilizou algum tipo de suplemento alimentar, incluindo vitaminas e minerais (vitamina C, cálcio, ferro, outros)?

() Sim () Não

Se sim, quais? _____

Foi prescrito por quem e com qual finalidade? _____

ANEXO 2



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E DESPORTOS - CEFID

Equipe: CIMED

Mestranda: Michele de Souza



RECORDATÓRIO 24 h

NOME:
Massa Corporal:
Estatura:

DN:
Data:

Refeição	Preparação	Alimento	Quantidade e Medida Caseira
Café da Manhã <u>Hora:</u>			
Lanche da manhã <u>Hora:</u>			
Almoço <u>Hora:</u>			

Lanche da tarde <u>Hora:</u>			
Jantar <u>Hora:</u>			
Lanche da Noite <u>Hora:</u>			

EXEMPLOS DE MEDIDAS CASEIRAS

- Pegador de macarrão
- Colher de cafezinho
- Colher de chá
- Colher de sobremesa
- Colher de sopa
- Colher de arroz ou de servir
- Concha de molho
- Concha pequena
- Concha média
- Concha de grande
- Escumadeira
- Copo de requeijão
- Xícara de chá

ANEXO 3

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E DESPORTOS - CEFID
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO E α -TOCOFEROL SOBRE OS BIOMARCADORES DE LESÃO MUSCULAR E ESTRESSE OXIDATIVO EM ATLETAS PROFISSIONAIS DE VOLEIBOL

Você está sendo convidado a participar de um estudo que estará verificando a influência da suplementação com vitamina C e vitamina E sobre os biomarcadores de lesão e estresse oxidativo. A vantagem de participar deste estudo é de poder auxiliar a comissão técnica de sua equipe na elaboração de seu treinamento a partir dos resultados dos testes realizados., pois, após analisar as amostras sanguíneas e detectar alterações nos biomarcadores de lesão muscular e estresse oxidativo será possível individualizar e corrigir cargas de treinamento, bem como melhorar a recuperação dos atletas detectados em situação de risco. Além disso, elucidará a possibilidade de redução ou prevenção de lesões musculares mais graves, em função da suplementação vitamínica. Sendo assim, este estudo apresenta um enfoque preventivo, propondo uma adequação individualizada do programa de treinamento, reduzindo a possibilidade de lesão e visando a melhora dos resultados obtidos pela equipe.

Para a participação neste estudo você precisa seguir todas as orientações com relação à suplementação vitamínica e comparecer ao laboratório nos dias que serão realizados os testes, os quais serão previamente agendados com a equipe técnica. A suplementação esta sendo fornecida para você na forma de cápsulas a serem administradas conforme orientação da nutricionista do projeto Michele de Souza. Você receberá as vitaminas C ou E que deverá ser utilizada pelo período recomendado. Durante o estudo serão realizadas testes e coletas sanguíneas no início e no final do período de suplementação. Este estudo terá a duração aproximada de 2 meses.

Para os exames de sangue serão utilizados materiais descartáveis que somente serão abertos na sua presença. Além disso, as coletas serão realizadas pela Dra. Monique Gevaerd, a qual é bioquímica e, portanto, apresenta habilitação para tal procedimento. Entretanto, por este ser um procedimento invasivo, pode ocorrer certo desconforto como uma dor leve no momento da picada da agulha, tonturas e enjôo. Porém, não serão poupados esforços para minimizar este possível desconforto.

Ao aceitar participar do projeto, sua identidade será preservada, pois cada indivíduo será identificado através de um número, com acesso restrito aos pesquisadores e à comissão técnica da equipe.

Conforme já mencionado, as pessoas que estarão te acompanhando durante o estudo serão a prof. Dra. Monique Gevaerd e a prof. Michele de Souza, nutricionista do projeto.

É importante esclarecer que você terá liberdade para se retirar do estudo em qualquer momento.

Solicitamos também a sua autorização para o uso de seus dados para a produção de artigos técnicos e científicos. A sua privacidade será mantida através da não-identificação do seu nome.

Agradecemos a sua participação e colaboração.

Atenciosamente,

Prof.^a Michele de Souza (michelesouza@terra.com.br)

Prof.^a Monique Gevaerd (monique@udesc.br)

Fone: (48) 3244-2324 ramal 241

Endereço: Rua Pascoal Simone n. 358 Coqueiros / Florianópolis

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa e que recebi de forma objetiva todas as explicações pertinentes ao projeto e que todos os dados a meu respeito serão sigilosos. Compreendo que neste estudo os procedimentos de intervenção serão feitos em mim.

Declaro que fui informado que posso me retirar do estudo a qualquer momento.

Nome _____ por _____ extenso:

Assinatura: _____ Florianópolis, ___ / ___ / ___

ANEXO 4

UDESC
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓSGRADUAÇÃO-PROPPG
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS - CEP



Florianópolis, 14 de dezembro de 2005

Nº. de Referência 166/05

Às Pesquisadoras Profa. Dra. Monique da Silva Gevaerd e Michele de Souza

Prezadas Senhoras,

Analisamos o projeto de pesquisa intitulado “Influência da suplementação de Ácido ascórbico e α -tocoferol sobre biomarcadores de lesão muscular e estresse oxidativo em atletas profissionais de voleibol” enviado previamente por V. S.^a. Desta forma, vimos por meio desta, comunicar que o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos tem como resultado a **aprovação** do referido projeto.

Este Comitê de Ética em Pesquisa segue as Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa Envolvendo Seres Humanos – Resolução CNS 196/96, criado para defender os interesses dos sujeitos da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Gostaria de salientar que quaisquer alterações do procedimento e metodologia que houver durante a realização do projeto em questão e, que envolva os indivíduos participantes, deverão ser informadas imediatamente ao Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos.

Duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverão ser assinadas pelo indivíduo pesquisado ou seu representante legal. Uma cópia deverá ser entregue ao indivíduo pesquisado e a outra deverá ser mantida pelos pesquisadores por um período de até cinco anos, sob sigilo.

Atenciosamente,

Rudney da Silva

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos – UDESC