UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA

JAMISON DE MELO VALIÉRO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES (C e E) EM PARÂMETROS SANGUÍNEOS APÓS O EXERCÍCIO FÍSICO

Campinas
2010

JAMISON DE MELO VALIÉRO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES (C e E) EM PARÂMETROS SANGUÍNEOS APÓS O EXERCÍCIO FÍSICO

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) apresentado à Faculdade de Educação Física da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Bacharel em Educação Física.

Orientador: Pablo Christiano Barboza Lollo

Campinas
2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA FEF – UNICAMP

Valiéro, Jamison de Melo.

V238e Efeito da suplementação de vitaminas antioxidantes (C e E) em parâmetros sanguíneos após o exercício físico / Jamison de Melo Valiéro. - Campinas, SP: [s.n], 2010.

Orientador: Pablo Christiano Barboza Lollo.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas.

1. Exercícios físicos. 2. Vitaminas. 3. Antioxidantes. 4. Lesão muscular. I. Lollo, Pablo Christiano Barboza. II. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Educação Física. III. Título.

asm/fef

Título em inglês: Effect of supplementation of antioxidant vitamins (C and E) in blood parameters after exercise.

Palavras-chaves em inglês (Keywords): Physical exercises. Antioxidant vitamins. Muscle injury.

Data da defesa: 30/11/2010.

JAMISON DE MELO VALIÉRO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES (C e E) EM PARÂMETROS SANGUÍNEOS APÓS O EXERCÍCIO FÍSICO

Este exemplar corresponde à redação final do Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) defendido por Jamison de Melo Valiéro e aprovado pela Comissão julgadora em: 30/11/2010.

Pablo Christiano Barboza Lollo
Orientador

Mara Patrícia Traina Chacon-Mikahil
Banca examinadora

Campinas
2010

Dedicatória

Aos meus pais, Roberto e Edna, que me ensinaram os verdadeiros valores da vida. Pela constante dedicação e inspiração para minha formação pessoal e profissional, mas principalmente pelo amor incondicional!

Aos meus irmãos, Thaís e Thiago, que na fraternidade foram e são essenciais na construção do meu ser!

E por fim, ao meu afilhado Daniel, que comporá a nossa família em fevereiro próximo, deixo aqui minha primeira homenagem!

Agradecimentos

Ao Professor Pablo Christiano Barboza Lollo pelo apoio indispensável, pela confiança em mim depositada e pela orientação inestimável...

A professora Dra. Mara Patrícia Traina Chacon-Mikahill, que mesmo enfrentando as adversidades da vida, de grande contribuição teve para a construção deste trabalho...

Ao professor Dr. Jaime Fárfan, pelas sugestões e correções feitas na elaboração deste trabalho...

À Daniela Gasparetto pela assistência nas análises laboratoriais e bioquímicas...

Aos amigos, Bruno Baquete, Carlos Eduardo, Juliana Landolfi, Júlio Moraes, Pedro Godoy, Rafael dos Santos e Thiago Leonardi, que foram essenciais na execução e que muito contribuíram para a realização deste trabalho...

Aos amigos e colegas, Marise, Bianca, Mônica, André, Diego, Ronaldo, Rodrigo, Gustavo, entre tantos outros da Faculdade de Educação Física que se fizeram sempre presentes...

Aos amigos de morada, Fred, Elias, Gean e Marcos, que ao longo de cinco bons anos compartilhamos alegrias, anseios, tristezas, sonhos... laços esses, que jamais se desfazerão...

A todos os professores da Unicamp que contribuíram ricamente para minha formação profissional e pessoal...

Aos atletas e técnicos da equipe de futebol de campo da LAU, que nos meandros do voluntariado foram solidários e imprescindíveis para a finalização deste estudo...

A todos que, de uma forma ou de outra, colaboraram seja por palavras, pensamento ou suor para a conclusão desta jornada e que por engano não foram aqui citados...

Em especial a Tatiana F. Santos, pelo companheirismo, apoio, sinceridade, amor, amizade, atenção e por se fazer sempre presente durante todos esses anos.

A todos o meu muito obrigado!

"Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?"

Fernando Pessoa

VALIÉRO, Jamison de Melo. Efeito da suplementação de vitaminas antioxidantes (C e E) em parâmetros sanguíneos após exercício físico. 2010. 91f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)-Faculdade de Educação Física. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

RESUMO

Um dos desafios das metodologias do treinamento físico consiste em realizar estímulos, pautados na relação entre esforço físico e período de recuperação/regeneração, que proporcione ao organismo a aquisição de uma condição funcional favorável para a mobilização de esforços mais elevados com um custo energético menor, além de propiciar um retardamento do aparecimento da fadiga, diminuição das lesões e uma melhora/otimização da performance física. Sabe-se que o exercício físico pode gerar estresse oxidativo (oriundo da produção de radicais livres), desde que as quantidades de espécies reativas de oxigênio (EROs) sejam superiores às defesas antioxidantes. Constata-se que durante o exercício físico a demanda energética é maior quando comparada a de repouso, com consequente elevação no consumo de O_2 e possível produção concomitante de EROs, sendo que estas quando não neutralizadas tendem a ter efeitos deletérios celulares e teciduais no organismo. Assim, o presente trabalho visou analisar biomarcadores sanguíneos, glutationa (GSH) e ácido úrico (AU) (marcadores do sistema antioxidante); creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) (marcadores de dano muscular), frente à uma suplementação vitamínica, objetivando entender e otimizar as adaptações dos sistemas antioxidantes ao exercício, evitando possíveis desequilíbrios entre a produção de radicais livres e sua neutralização, no sentido de atuar na manutenção da integridade celular e reduzir o tempo de recuperação de lesão muscular decorrente da prática de exercício físico. Para tal, participaram da pesquisa 12 universitários saudáveis, divididos aleatoriamente em grupo controle e experimental, na faixa etária de 18 à 25 anos de idade, sendo estes suplementados com 1000mg de vitamina C (ácido ascórbico) e 300mg de vitamina E (alfa-tocoferol) ou placebo, a suplementação foi subdividida em duas doses, a primeira metade da dose foi administrada 24 horas antes da aplicação de uma bateria de testes físicos e a outra metade imediatamente antes da execução dos testes. 48 horas após a aplicação dos testes físicos foram retiradas amostras de sangue para análise dos biomarcadores já referidos. Para o grupo experimental, os resultados médios obtidos para as medidas de GSH, AU, CK e LDH foram: 69,85 μmol/L, 5,360 mg/dL, 303,50 U/L e 163,33 U/L, respectivamente. O grupo controle, por sua vez, apresentou para os mesmos marcadores os valores 61,83 μmol/L, 5,356 mg/dL, 323,17 U/L e 158,50 U/L, respectivamente. Embora esses valores tenham ficado com $p>0,05$, pode-se inferir que há uma tendência de melhora no perfil de defesa do sistema antioxidante, assim como uma redução nos marcadores de dano muscular

Palavras-Chaves: exercício físico; vitaminas antioxidantes; lesão muscular

VALIÉRO, Jamison de Melo. Effect of supplementation of antioxidant vitamins (C and E) in blood parameters after exercise. 2010. 91f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Faculdade de Educação Física. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

ABSTRACT

One of the challenges in physical training methods is to perform stimuli, guided by the relationship between physical effort and the period of recovery / regeneration, which provide the organism with the acquisition of a favorable functional condition for the mobilization of bigger efforts with less energy cost, in addition to providing a delay on the onset of fatigue, decrease injuries and an improvement / optimization of physical performance. It is known that physical exercise can cause oxidative stress (from the production of free radicals), since the quantities of reactive oxygen species (ROS) exceed the antioxidant defenses. It appears that during exercises the energy demand is higher than in the rest, with the consequent increase in O_2 consumption and possible concomitant production of ROS which when are not neutralized tend to have deleterious effects on cell and tissue of the body. Thus, this study aimed to analyze blood biomarkers, glutathione (GSH) and uric acid (UA) (markers of the antioxidant system); creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) (markers of the muscle damage), and their relation to a vitamin supplementation, aiming to understand and optimize the adaptations of antioxidant systems to exercise, avoiding possible imbalances between the production of free radicals and their neutralization, to act in the maintenance of cell integrity and reduce the recovery time of muscle injury caused by physical exercise. In order to achieve this goal, around 12 healthy college students, aged from 18 to 25 years old, were randomly divided into control and experimental groups, the latter being supplemented with 1000mg of vitamin C (ascorbic acid) and 300mg of vitamin E (alpha tocopherol) or placebo, the supplementation was divided into two doses, the first half of the dose was administered 24 hours before applying a battery of physical tests and the other half just before the execution of tests. 48 hours after application of physical tests were taken blood samples for analysis of biomarkers mentioned earlier. For the experimental group, the average results for the measures of GSH, AU, CK, and LDH were, respectively: 69,85 mmol / L, 5,360 mg / dL, 303,50 U / L and 163,33 U / L. For the control group, the results for the same markers were: 61.83 mmol / L, 5.356 mg / dL, 323.17 U / L, and 158.50 U / L, respectively. Although these data have presented $p > 0.05$, one can infer there is a trend of improvement in the antioxidant defense system profile, as well as a reduction in muscle damage markers.

Keywords: physical exercise, antioxidant vitamins, muscle injury

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - "PAR-Q"..... 81
Anexo 2 - Parecer do Comitê de Ética..... 82

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido..... 85
Apêndice 2 Teste t de Student..... 87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho experimental..... 31
Figura 2 - Trajetória de deslocamento do teste de agilidade..... 34
Figura 3 - Teste de Agilidade – SEMO..... 34
Figura 4 - Teste de Flexão dos Cotovelos..... 36
Figura 5 - Teste de Velocidade de 30 metros..... 39
Figura 6 - Teste Arremesso de Medicine Ball..... 41
Figura 7 - Teste de Força Abdominal..... 43
Figura 8 - Teste de Salto Horizontal..... 45
Figura 9 - Teste do Banco de Katch & Mcardle..... 48
Figura 10 - Teste de Corrida de Cooper de 2400 metros..... 51
Figura 11 - Médias dos parâmetros bioquímicos..... 61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estudos sobre suplementação antioxidante associada ao exercício físico..... 26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teste de flexão e extensão dos cotovelos (nº de repetições)..... 36

Tabela 2 - Teste de 30 metros numa população búlgara..... 38

Tabela 3 - Teste de Arremesso de Medicine Ball..... 40

Tabela 4 - Teste Abdominal em homens - nº de repetições máximas em 1 minuto..... 42

Tabela 5 - Teste de Salto Horizontal..... 44

Tabela 6 - Capacidade aeróbia de consumo máximo de O_2 em (ml/kg/min-^{1})..... 47

Tabela 7 - Teste de corrida de 2.400 metros (Cooper)..... 49

Tabela 8 - Valores obtidos dos parâmetros do sistema antioxidante e de lesão muscular.. 62

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AO	Antioxidante
CAT	Catalase
CK	Creatina Quinase
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EO	Estresse Oxidativo
ERNS	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
FEF	Faculdade de Educação Física
GPx	Glutationa Peroxidase
GR	Glutationa Redutase
GSH	Glutationa
GSSG	Glutationa Oxidada
H2O2	Peróxido de Hidrogênio
LAU	Liga das Atléticas da Unicamp
LDH	Lactato Desidrogenase
MDA	Malonaldeído
NADPH	Fosfato de Dinucleotido de Nicotinamida e Adenina
NO•	Óxido Nítrico
O_2	Oxigênio Molecular
O_2•-	Ânion Radical Superóxido
OH°	Radical Hidroxil
ONOO-	Peroxinitrito
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Ácido Tiobarbitúrico
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
VO_2máx	Consumo Máximo de Oxigênio

SUMÁRIO

RESUMO viii
ABSTRACT ix
LISTA DE ANEXOS x
LISTA DE APÊNDICES xi
LISTA DE FIGURAS xii
LISTA DE QUADROS xiii
LISTA DE TABELAS xiv
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS xv
1 INTRODUÇÃO 17
1.1 Radicais Livres, Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo 17
1.2 Exercício Físico e Estresse Oxidativo 19
1.3 Sistemas Antioxidantes 20
1.4 Efeitos do Exercício Físico nos Sistemas Antioxidantes 22
1.5 Exercício Físico, Lesão Muscular e Nutrientes Antioxidantes 23
2 JUSTIFICATIVA 27
3 OBJETIVOS 28
4 HIPÓTESE 29
5 MÉTODO 30
5.1 Caracterização da pesquisa 30
5.2 Sujeitos 30
5.3 Desenho experimental 30
5.4 Critérios de inclusão 32
5.5 Critérios de exclusão 32
5.6 Protocolos de exercícios 32
5.6.1 Teste de Agilidade de SEMO 33
5.6.2 Teste de flexão e extensão dos cotovelos 35
5.6.3 Teste de corrida de 30 metros 37
5.6.4 Teste de Arremesso de Medicine Ball 40
5.6.6 Teste de Salto Horizontal 44

5.6.7 Teste de Banco para VO_2 máximo 46
5.6.8 Teste de corrida de 2.400 metros (Cooper) 48
5.7 Equipamentos utilizados para coleta de dados dos testes físicos 51
5.8 Coletas de sangue e dosagem das amostras 52
5.8.1 Creatina quinase (CK) 53
5.8.2 Lactato Desidrogenase (LDH) – Kit Ebram 55
5.8.3 Glutationa (GSH) 56
5.8.4 Ácido Úrico (AU) – Kit Ebram 58
5.9 Análises Estatísticas 60
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 61
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 67
8 REFERÊNCIAS 69
ANEXOS 81
ANEXO 1: PAR-Q. 82
ANEXO 2: Parecer do Cômite de Ética 83
APÊNDICES 85
APÊNDICE 1: Termo de Compromisso Livre e Esclarecido 86
APÊNDICE 2: Teste T de *Student* 88

1 INTRODUÇÃO

1.1 Radicais Livres, Espécies Reativas de Oxigênio e Estresse Oxidativo

Os seres vivos se desenvolveram no decorrer de milhões de anos, nos quais organismos anaeróbios unicelulares sobreviviam sem a presença de oxigênio. Entretanto, com as mudanças ocorridas no universo surgiram organismos pluricelulares aeróbios, cuja principal fonte de energia é obtida por intermédio do oxigênio (OLSZEWER e NAVEIRA, 1997). Os seres humanos se enquadram nesse perfil, uma vez que no processo de respiração absorve em torno de 95-98% do oxigênio para a produção de energia na forma de ATP, e, os outros 2-5% restantes transformam-se em radicais livres (MCARDLE et al., 2008).

O termo radical livre é usado para designar qualquer átomo ou molécula com existência independente, cuja orbita externa não se encontra pareada, o que o torna altamente reativo, capaz de reagir com compostos situados próximos às suas órbitas externas, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons (SHAMI e MOREIRA, 2004; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990).

Os radicais livres de oxigênio são formados pela redução incompleta do oxigênio, gerando espécies que apresentam alta reatividade para outras biomoléculas, como lipídios e proteínas das membranas celulares e, até mesmo, o DNA (ALESSIO, 1993; POWERS et al., 1999; RADÁK et al., 1999; SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004). Assim, se uma molécula perder um elétron de sua órbita externa, transformar-se-á num radical livre, que por sua vez, tem uma vida média muito curta medida em milissegundos, porém se multiplica rapidamente em cascata seqüestrando elétrons de outras moléculas (OLSZEWER e NAVEIRA, 1997). Vale ressaltar que a vida média curta de um radical livre levará os possíveis danos oxidativos teciduais ou celulares ocorrerem próximos aos sítios de suas formações (VINA et al., 2000).

O oxigênio molecular (O_2) é um radical livre, pois contém dois elétrons desemparelhados, de spins iguais, localizados em dois orbitais diferentes. Isso restringe as reações de oxido-redução do oxigênio a trocas univalentes de elétrons, com a adição de um elétron de cada vez, ou com moléculas que possuam dois elétrons de spins também iguais. Dessa forma, a molécula de O_2 é

bastante estável. Essa condição, conhecida como restrição de spin, é muito importante para a vida, já que possibilita a ocorrência de moléculas constituídas de cadeias carbônicas altamente reduzidas numa atmosfera com 21% de O_2, como a da Terra (ARUOMA e HALLIWELL, 1998).

Nos organismos aeróbicos, o O_2 é utilizado principalmente nas mitocôndrias, como aceptor final de elétrons na cadeia respiratória, sendo reduzido a água. No entanto, uma pequena porcentagem do O_2 é reduzido a ânion radical superóxido (O_2•-) e este por sua vez é o iniciador de outras espécies reativas de oxigênio (TURRENS, 2003; BOVERIS et al., 1972).

Tendo isso em vista, mesmo o oxigênio tendo trazido grandes benefícios energéticos para o ser humano, este teve que desenvolver ao longo de sua evolução defesas antioxidantes químicas e enzimáticas contra os seus intermediários reativos, como é caso do, superóxido (O_2•-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxil (OH°), dentre outros (CATLING et al., 2005; PRYOR et al., 2006). Devido as suas propriedades físicas e químicas, esses intermediários recebem a denominação, como já relatado acima, de espécies reativas de O_2 (EROs), sendo que destas somente o H_2O_2 não se qualifica como radical livre, porque não possui elétrons desemparelhados na sua estrutura molecular, mas na presença de determinados íons metálicos (ferro e cobre) pode gerar radicais altamente reativos (HALLIWELL, 2006a; HALLIWELL, 2006b).

Alguns estudos apontam que as EROs, se não inibidas, podem ser tóxicas ao organismo tendo fortes relações com patogêneses (diabetes, doenças cardíacas, doenças pulmonares, infecções, etc.) e com processos fisiológicos do envelhecimento (MCARDLE et al., 2008; VINSON, 2006; VALKO et al., 2006; SIMMONS, 2006; YU e CHUNG, 2006). Fazendo-se assim necessário a presença de defesas antioxidantes, uma vez que são essenciais para controlar os processos degenerativos decorrentes das EROs (POWERS et al., 2004; EVANS, 2000).

Outro aspecto a ser lembrado é que o oxigênio não é o único meio sintetizador de radicais livres, há outros mecanismos geradores exógenos, como, radiações gama e ultravioleta, medicamentos, agrotóxicos, intoxicação por metais pesados, cigarros, poluição ambiental, entre outros (OLSZEWER e NAVEIRA, 1997; HALLIWELL, 1999). E agentes geradores endógenos, como é o caso das espécies reativas de nitrogênio (ERNs), que atuam com propriedades reativas semelhantes a das EROs, mas que se apresentam principalmente através da relação do óxido nítrico (NO•), produzido no músculo, com a vasodilatação ou com sua reação com o O_2•- gerando peroxinitrito (ONOO-), um intermediário que pode se decompor em um oxidante

poderoso, com reatividade similar ao radical hidroxil (JACKSON, 2005; BECKMAN et al., 1990).

É importante também ressaltar que os radicais livres tem um papel de extrema utilidade e que traz benefícios ao nosso organismo. Sendo que o principal efeito benéfico do radical livre é sua atuação junto ao sistema imunológico, como linha de defesa do organismo, tendo efeito bactericida, fungicida e virucida (OLSZEWER e NAVEIRA, 1997).

Portanto, se a ação dos radicais livres será benéfica ou deletéria ao organismo dependerá muito da atividade dos antioxidantes, que como já visto, são substâncias que suprimem os radicais livres do contexto fisiológico de sua geração. Entretanto, se houver um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes, no qual o primeiro se sobrepõe ao segundo, há o estresse oxidativo (FINAUD et al., 2006; JENKINS, 1988). Nessas circunstâncias um dos principais mecanismos de lesão é a peroxidação lipídica, que consiste na oxidação da camada lipídica da membrana celular; além disso, o estresse oxidativo pode gerar danos a proteínas e ao DNA, provocando diversas alterações na função celular e tecidual do organismo (SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004).

1.2 Exercício Físico e Estresse Oxidativo

O exercício físico pode gerar estresse oxidativo desde que as quantidades de EROs sejam superiores as defesas antioxidantes (HALLIWELL, 2006a). Durante o exercício físico a demanda energética é maior quando comparada a de repouso, com conseqüente elevação no consumo de O_2 (em até 20 vezes) e possível produção concomitante de EROs (ASTRAND e RODAHL, 1986; ABERNETHY et al., 1990).

Assumindo que cerca de 2 a 5% desse oxigênio, não consumido na mitocôndria, dá origem a EROs, observa-se uma intrínseca associação entre exercício físico e aumento na produção de EROs, dependente do protocolo de treinamento empregado (JENKINS e GOLDFARB, 1993). Além disso, o exercício estimula a redistribuição do fluxo sangüíneo, provocando hipóxia e reoxigenação em vários tecidos, o que também pode aumentar a produção destas espécies oxidantes pela xantina oxidase no músculo (ALESSIO, 1993; REID, 2001;

SACHECK e BLUMBERG, 2001). Por isso, vem sendo estudado de forma intensa a participação de EROs com lesões oxidativas teciduais e celulares em organismos submetidos ao exercício físico ou treinamento (DAVIES, 2000).

Assim, como um grande volume de O_2 é absorvido durante o exercício físico e que uma pequena porcentagem dele é reduzido a ânion radical superóxido (O_2•-), permite-se que o O_2•- seja formado através de alguns mecanismos, como é o caso, da cadeia respiratória de elétrons, da enzima xantina oxidase, de neutrófilos e resposta inflamatória (NADPH oxidase) (NETO, 2003).

Sabe-se que muitas células, inclusive miócitos, são capazes de responder ao aumento na formação de EROs, induzindo mecanismos de reparo e proteção, através do sistema de defesa antioxidante (MCARDLE, 2008). No entanto, esta resposta é altamente dependente de diversos fatores tais como: tipo, duração e intensidade do exercício; idade e estado nutricional dos indivíduos e tipo de tecido analisado, já que os níveis de antioxidantes endógenos podem variar entre os diferentes órgãos (LIU et al., 2000).

Alguns estudos nos mostram que a realização de exercício físico extenuante ou de longa duração e/ou realizado por indivíduos destreinados, estão relacionados com danos teciduais conseqüentes do estresse oxidativo induzido pelo aumento de EROs (POLIDORI et al., 2001; SCHNEIDER et al., 2009). E como já visto anteriormente, a peroxidação lipídica parece ser um importante mecanismo pelo qual o exercício induz lesão e pode ser monitorada através da determinação da concentração de marcadores bioquímicos tais como, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e dienos conjugados (URSO e CLARKSON, 2003).

1.3 Sistemas Antioxidantes

Os organismos aeróbios são protegidos por um sistema de defesa antioxidante composto por enzimas e substâncias protetoras não enzimáticas (ZWART et al, 1999). Sendo que um antioxidante pode ser definido como qualquer substância que, presente em baixas concentrações frente a um substrato oxidável retarda ou previne a oxidação de tal substrato, além ainda, de poder reparar lesões causadas por tais agentes oxidantes (HALLIWELL, 2006a). Os

antioxidantes não enzimáticos consistem principalmente de glutationa (GSH), ceruloplasmina e ácido úrico. Os antioxidantes dietéticos exógenos (vitaminas C e E, β-caroteno, cobre (Cu), selênio (Se), zinco (Zn), ubiquinona e flavonóides) interagem com os antioxidantes endógenos compondo uma rede celular antioxidante integrada. Já os antioxidantes enzimáticos são representados por superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e o ciclo redox da glutationa, com as enzimas glutationa peroxidase (GPx) e glutationa redutase (GR) (VALKO et al., 2007).

No tangente aos antioxidantes enzimáticos, a SOD como o próprio nome já diz tem a função de catalisar a dismutação do superóxido (O_2•-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2. A SOD se apresenta de três formas, são elas: Cu-Zn-SOD (cobre-zinco-dependente), a isoforma Mn-SOD (manganês-dependente) e a isoforma extracelular (ec-SOD). A isoforma Cu-Zn-SOD está localizada predominantemente no citosol, enquanto que a isoforma Mn-SOD nas mitocôndrias (POWERS e LENNON, 1999).

Já a enzima CAT é responsável pela quebra do H_2O_2 transformando-o em H_2O e O_2, para tal necessita de Fe^{+3} como cofator, sendo que esta enzima se encontra em grandes concentrações nos peroxissomas e em menor quantidade no citosol (POWERS e LENNON, 1999).

O ciclo redox da glutationa é capaz de reduzir H_2O_2 ou hidroperóxidos orgânicos, provindos da peroxidação lipídica, respectivamente a H_2O ou álcool. As enzimas GPx e GR atuam em conjunto tanto no citosol como na mitocôndria e necessitam de GSH e NADPH, para o perfeito funcionamento do sistema (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1998).

Vale destacar que a atividade de superóxido dismutase, catalase e glutationa peroxidase é maior em músculos com alta capacidade oxidativa (fibras musculares do tipo I) em comparação aos músculos com baixa capacidade oxidativa (com predominância de fibras musculares do tipo IIb) (POWERS e LENNON, 1999).

No que diz respeito aos antioxidantes não enzimáticos, temos que a GSH é um tripeptídeo que atua como cofator das enzimas GPx e GR, desempenhando um papel protetor contra o estresse oxidativo, com sua oxidação a dissulfeto da glutationa (GSSG). Atua como um tampão redox sulfidrílico mantendo os resíduos cisteinila da hemoglobina e de outras proteínas do eritrócito no estado reduzido, sendo que a falha ou a falta desta função pode resultar na formação de meta-hemoglobina e consequente incapacidade do eritrócito em transportar oxigênio, impedindo sua passagem para órgãos vitais (VASCONCELOS, 2007).

Já o ácido úrico é um produto do metabolismo das purinas produzido pela oxidação da hipoxantina e xantina pela xantina oxidase e xantina desidrogenase. Ele é um ácido fraco e a sua forma ionizada, o urato monossódico, é a forma encontrada no plasma humano (HELLSTEN, 1997). Alguns autores relatam que o ácido úrico atua como um dos mais importantes antioxidantes no plasma com ação direta sobre alguns radicais livres, como é o caso do oxigênio singlete, radical peroxil e peroxinitrito (HOOPER et al 2000). Além, de ter concentrações maiores que de outros antioxidantes não enzimáticos no plasma, como é o caso da vitamina C e E. (GHISELLI et al., 2000).

1.4 Efeitos do Exercício Físico nos Sistemas Antioxidantes

Como já visto anteriormente a produção de radicais livres tende a aumentar durante o exercício, devido principalmente a elevação do consumo de oxigênio, podendo elevar uma produção concomitante de EROs, que por sua vez pode causar danos celulares ou teciduais. Porém, alguns estudos indicam que apesar de haver um aumento na produção de radicais livres durante o exercício, há também paralelamente uma adequação ou aumento das defesas antioxidantes do organismo, principalmente das defesas enzimáticas (SOD, GPx, CAT, GR), decorrentes de adaptações ao treinamento (POWERS et al., 1999; HELLSTEN, 1996; VINCENT et al., 1999). Assim, o treinamento físico pode gerar adaptações no organismo estimulando uma regulação ascendente do sistema antioxidante, na medida em que há uma elevação do mesmo (MCARDLE et al., 2008).

É importante lembrar que os mecanismos adaptatórios do sistema antioxidante são altamente dependentes de fatores como: tipo, duração e freqüência de exercício, estado nutricional, idade e tipo de tecido analisado (LIU et al., 2000). Portanto, se as adaptações antioxidantes alcançadas no treinamento serão positivas ou negativas, dependerá muito do protocolo de exercício físico utilizado e da condição do indivíduo (SMOLKA et al., 2000).

Em jogadores de futebol constatou-se que a capacidade antioxidante total do plasma era 25% maior quando comparado com indivíduos sedentários, e, as concentrações de ácido

ascórbico, ácido úrico e α-tocoferol também foram maiores, sugerindo uma adaptação das defesas antioxidantes frente ao treinamento (BRITES et al., 1996).

Em ciclistas, foi observado aumento nas atividades das enzimas GPx e GR muscular após sete semanas de treinamento intermitente de alta intensidade em bicicleta, também sugerindo uma adaptação do sistema antioxidante do organismo ao estresse oxidativo gerado pelo exercício (HELLSTEN, 1996). Em outro estudo propuseram que a produção de H_2O_2 e EROs durante o exercício, teve efeito estimulante sobre a produção de SOD e CAT (KOSENKO et al., 1997).

Estas observações também foram ratificadas com exercício agudo, em que o músculo esquelético submetido a uma carga isolada de trabalho exaustivo produziu aumento da peroxidação lipídica e estimulou a atividade de enzimas antioxidantes (GPx, SOD e CAT). Segundo os autores, a síntese dessas enzimas não só indica aumento do estresse oxidativo, mas também estimula adaptações nos mecanismos de defesa antioxidante (JI e FU, 1992).

Vale salientar que, devido principalmente à diferentes protocolos de exercício ou treinamento e características individuais é possível observar estudos com resultados não consensuais (OLIVEIRA et al., 2007). Contudo, faz-se consistente que indivíduos submetidos ao treinamento físico possuem níveis mais elevados de capacidade antioxidante, demonstrando uma maior resistência ao estresse oxidativo induzido pelo exercício (JI, 2002), porém, o exercício excessivo - exaustivo - pode ser deletério a essa capacidade (SMOLKA et al., 2000).

1.5 Exercício Físico, Lesão Muscular e Nutrientes Antioxidantes

Visto claramente que o exercício físico pode ser um estímulo positivo aos sistemas antioxidantes do organismo, algumas estratégias nutricionais têm sido associadas à atividade física a fim de se elevar a capacidade antioxidante dos indivíduos, como é o caso da suplementação com antioxidantes, restrições dietéticas e consumo de fármacos (CRUZAT et al., 2007). Geralmente, as mudanças advindas do usufruto dessas estratégias tem como propósito, sobretudo, a melhora/otimização do desempenho físico do indivíduo, no retardamento do aparecimento da fadiga, diminuição das lesões e na economia de substratos energéticos (MOLNAR, 2005).

Essas estratégias podem ser particularmente benéficas em indivíduos que se submetem a exercícios intensos e prolongados ou treinos exaustivos, ou ainda, que possuam frequência de treinamento muito elevada, podendo superar a capacidade do sistema antioxidante e, em consequência, promover lesões musculares, gerando processo inflamatório local e estresse oxidativo. Todos esses fatores estão envolvidos na redução do desempenho, do volume de treinamento e, possivelmente, em overtraining (PALAZZETTI et al., 2003).

Um dos fatores que permeiam a queda de desempenho diz respeito a lesão de fibras musculares, estudos apontam que a determinação da lesão pode ser verificada pelo efluxo de enzimas específicas para a circulação sanguínea. A creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) são enzimas citosólicas catalisadoras do sistema energético que possuem uma relação direta com lesão muscular do tecido cardíaco e estriado (muscular). Quanto mais elevados os seus valores no plasma, maior será o indício de que há lesão muscular. Assim, essas enzimas têm sido amplamente estudadas como marcadores bioquímicos indiretos de lesão muscular frente ao exercício (NOSAKA et al., 2002).

A CK tem sido relacionada principalmente em lesões musculares decorrentes da fase excêntrica do exercício, podendo permanecer aumentada em até 7 dias após a realização de um esforço e tendo seu pico sérico (dependente de intensidade de exercício, tecido analisado, individualidade biológica, gênero, etc) em torno de 48 horas após o estímulo físico (BRANCACCIO et al, 2007). Exercícios de força de alta intensidade ou atividades cíclicas que envolvam alto volume têm sido associados a maiores aumentos da CK quando comparado com intensidade e volume moderados (UCHIDA et al 2009; NIEMAN et al., 2001).

A atividade elevada de LDH pode ser observada no plasma após exercício físico, no entanto, esta enzima tem um valor como marcador bioquímico de lesão muscular um pouco menor que a CK, uma vez que está amplamente distribuída no organismo, sendo encontrada em quantidades praticamente iguais no fígado, coração e músculo esquelético. E que suas concentrações quando comparados com a CK, a nível de músculo esquelético são menores, porém não deixa de ser um importante marcador de lesão muscular (PAULA, 2004).

Muitas pesquisas estão sendo feitas no intuito de esclarecer quais são os efeitos dos nutrientes antioxidantes nestes marcadores de lesão muscular e estresse oxidativo. Trataremos aqui de dois em especifico, vitamina E (α-tocoferol) e vitamina C (ácido ascórbico), integrantes estes do sistema antioxidante não enzimático. O α-tocoferol é um antioxidante lipossolúvel que

atua bloqueando a etapa de propagação da peroxidação lipídica dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas e lipoproteínas, além de interagir com outros antioxidantes (VASCONCELOS et al., 2007). A fim de avaliar o efeito da suplementação frente as EROs induzido por exercício, ROKITZKI et al 1994, registraram que ciclistas ingerindo 300mg de a-tocoferol/dia durante 20 semanas apresentaram menor concentração de malonaldeido (MDA), produto da peroxidação lipídica, após exercício extenuante, quando comparados ao grupo controle, registrando melhoras do perfil antioxidante dos participantes quando suplementados com α-tocoferol.

Já a vitamina C é um antioxidante hidrossolúvel que em sistemas biológicos com pH fisiológicos (7,4) apresenta-se na forma ionizada de ascorbato, sendo encontrada mais abundantemente no meio extracelular, embora desempenhe importante papel no citosol (PALMER et al., 2003). Atua eficientemente sobre o ânion radical superóxido, o peróxido de hidrogênio, o hipoclorito e os radicais hidroxila e peroxila. O ascorbato pode atuar diretamente nas membranas celulares, por impedir a iniciação da peroxidação lipídica ou indiretamente por regenerar a vitamina E (VASCONCELOS, 2007). A fim de verificar a influencia da suplementação antioxidante frente ao EO induzido pelo exercício em jogadoras de futebol, ANDERSSON et al. 2010, constataram que uma suplementação antioxidante (contendo ácido ascórbico e outros) atua sinergicamente com os antioxidantes endógenos, consumidos na dieta pós um jogo de futebol, tendendo a equilibrar o aumento de GSSG induzida pelo exercício dificultando a peroxidação lipídica.

Objetivando entender e aperfeiçoar a adaptação dos sistemas antioxidantes ao exercício, evitando possíveis desequilíbrios entre a produção de radicais livres e a sua neutralização, pesquisadores estão explorando os efeitos da suplementação antioxidante (em diferentes doses e combinações de nutrientes) associada ao exercício. Abaixo encontra-se o quadro 1 com alguns destes estudos e seus principais achados:

QUADRO 1
Estudos referenciais sobre suplementação de vitaminas antioxidantes e sua ação no organismo humano.

Autor(es)	Ano	Vitaminas/Dosagens	Tempo de Suplementação	Tipo de Exercício	Resultados
Zoppi et al	2006	1000mg de AA e 800mg de a-tocoferol/dia, dividida em 4 porções	Durante pré-temporada (90 dias)	Treino futebol	Diminuição da peroxidação lipídica e dano muscular (CK)
Sureda et al	2008	152 mg de vitamina C / dia e 50 mg de vitamina E / dia	Durante 30 dias	Corrida	Redução no dano oxidativo sem prejudicar adaptação ao ex. > ativ GPx e catalase c/ suplementação
Nakhostin et al	2008	1000mg de vit. C	Pré-exercício/única sessão	Corrida	Suplementação com vitamina C previne a peroxidação lipídica e a lesão muscular
Aguiló et al	2007	500mg de AA (nos últimos 15 dias apenas), 250 mg de vit. E e 15mg de b-caroteno	Durante 90 dias	Ciclismo	Suplementação c/ antioxidantes diminui a concentração de lactato sanguíneo, melhorando a capacidade de obter energia aerobicamente
Bloomer et al	2004	1000mg de AA, 400UI(268mg) de a-tocoferol e 90 micro-gramas de selênio/dia	14 dias + 3 dias após teste	Exercício Excêntrico	Suplementação com antioxidantes reduziu as elevações da atividade plasmática da CK e dor muscular
Schoder et al	2001	1000mg de AA, 600mg de a-tocoferol e 32mg de b-caroteno/dia	35 dias	Basquete	Suplementação com α-tocoferol, β-caroteno e AA podem ser úteis na redução dos peróxidos lipídicos, nos níveis séricos de pico de LDH e depuração de testosterona
Tauler et al	2002	1000mg de AA (apenas nos últimos 15 dias), 500mg de vit. E e 30mg de b-caroteno/dia	90 dias	Corrida/ci-clismo	Suplementação de antioxidantes aumenta a atividade antioxidante da enzima superóxido dismutase e catalase em neutrófilos.
Alessio et al	1997	1000mg de AA/dia	1 dia ou 2 semanas	Esteira	O estresse oxidativo induzido pelo exercício foi maior nos indivíduos não suplementos com AA, em comparação c/ os suplementados 1 dia ou 2 semanas

Quadro 1. AA (ácido ascórbico); CK (creatina quinase); LDH (lactato desidrogenase).

2 JUSTIFICATIVA

Sabe-se que um dos desafios das metodologias de treinamento físico consiste em realizar estímulos, pautados na relação entre esforço físico e período de recuperação/regeneração, que proporcione ao organismo a aquisição de uma condição funcional favorável para a mobilização de esforços mais elevados com um custo energético menor, além de propiciar um retardamento do aparecimento da fadiga, diminuição das lesões e uma melhora/otimização do desempenho física do indivíduo (MOLNAR, 2005).

Alguns estudos nos mostram que a realização de exercício físico extenuante ou de longa duração e/ou realizado por indivíduos destreinados, estão relacionados com danos teciduais conseqüentes do estresse oxidativo induzido pelo aumento de EROs (POLIDORI et al., 2001; SCHNEIDER et al., 2009). Todos esses fatores estão envolvidos na redução do desempenho físico, do volume de treinamento e, possivelmente, em overtraining (PALAZZETTI et al., 2003).

Tendo isso em vista, o presente trabalho visou analisar biomarcadores sanguíneos frente à uma suplementação vitamínica, objetivando entender e otimizar a adaptação dos sistemas antioxidantes ao exercício, evitando possíveis desequilíbrios entre a produção de radicais livres e sua neutralização, no sentido de atuar na manutenção da integridade celular e reduzir o tempo de recuperação de lesão muscular decorrente da prática de exercício físico.

3 OBJETIVOS

- **Geral:** analisar os efeitos da suplementação de vitaminas antioxidantes (C e E) nos parâmetros sanguíneos de lesão muscular e de defesa antioxidante após exercício físico.

- **Específicos:**

    - Analisar biomarcadores do sistema antioxidante: glutationa e ácido úrico;
    - Analisar biomarcadores de dano muscular: creatina quinase e lactato desidrogenase.

4 HIPÓTESE

Acredita-se que a suplementação vitamínica proposta auxilia o sistema de defesa antioxidante de forma preventiva na manutenção da integridade das membranas celulares, reduzindo os marcadores de dano muscular e melhorando os marcadores do sistema antioxidante, frente ao estresse oxidativo oriundo do exercício físico.

5 MÉTODO

5.1 Caracterização da pesquisa

Baseando-se na descrição metodológica feita por Sousa (2001), este estudo têm: caráter *transversal*, uma vez que dada secção da população é testada em momentos específicos, com as mesmas variáveis e estimando sua alteração utilizando as mesmas estratégias e instrumentos; *quantitativo* porque prevê a mensuração das variáveis, buscando verificar e explicar sua existência, relação ou influencia pré-determinadas, sobre uma outra; *analítico* pela preocupação com o mais obvio à maioria das situações almejando a uniformidade do fenômeno; e *experimental* por se caracterizar pelo estabelecimento de relações de causa-efeito das variáveis em condições ideais de pesquisa.

5.2 Sujeitos

Os voluntários desse estudo foram estudantes universitários que compunham a equipe de futebol de campo da Liga das Atléticas da Unicamp (LAU). Foram selecionados inicialmente 20 indivíduos saudáveis, dos quais 12 (grupo experimental n=6; grupo controle n=6) concluíram o presente estudo, sendo estes do sexo masculino e na faixa etária entre 18 e 30 anos. Foram submetidos ao desenho experimental abaixo descrito.

5.3 Desenho experimental

Estudo experimental do tipo duplo-cego randomizado, no qual os voluntários foram divididos de modo aleatório em dois grupos: experimental e controle. O grupo experimental

recebeu suplementação de 500mg de vitaminas C (ácido ascórbico) e 150mg de vitamina E (α-tocoferol), em cápsula gelatinosa, 24 horas antes da realização dos testes físicos e a mesma dose imediatamente antes dos testes, como mostra a figura 1, a seguir:

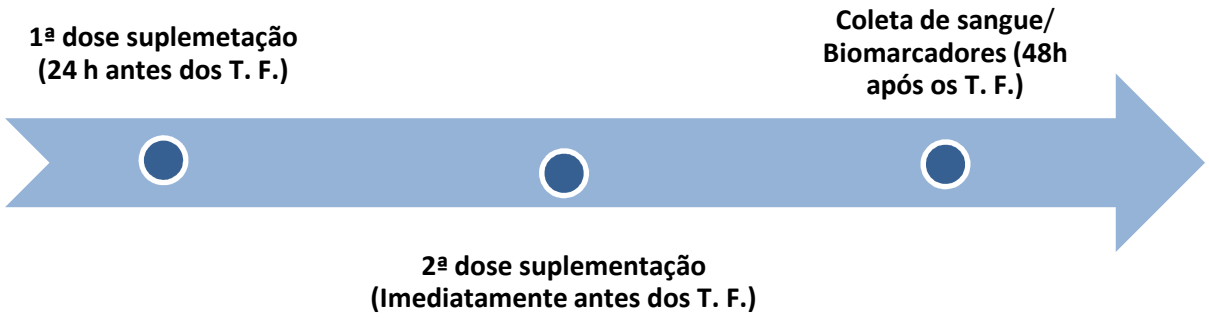


Figura 1 - desenho experimental. "T. F." (testes físicos)

A dosagem foi definida com base nos principais achados dos estudos do quadro 1. Salientamos que essas doses são consideradas seguras segundo as orientações internacionais das DRI (Dietary Reference Intakes - Ingesão Diária Recomendada ou Consumações de Referência Dietéticas), que estabelecem como dosagem máxima segura para vitamina C 2000mg (comercializada frequentemente para combater sintomas de resfriados) dia e para vitamina E 1000mg.

Portanto, o presente estudo não utilizou superdosagem, usando 50 e 30% da dose máxima da recomendação diária para vitamina C e E, respectivamente. Já o grupo controle recebeu o mesmo tratamento, porém com cápsula gelatinosa contendo placebo (maltodextrina). Após a intervenção e realização dos testes físicos todos os voluntários tiveram o sangue coletado para as análises citadas.

5.4 Critérios de inclusão

- Manifestação de desejo em participar do estudo assinando o termo de consentimento livre e esclarecido;
- Idade entre 18 e 30 anos;
- Atletas da equipe de futebol de campo da Liga das Atléticas da Unicamp;
- Carga de treinos de 2 vezes/semana;
- Não-tabagista e não-etilista.

5.5 Critérios de exclusão

- Desejo do voluntário de se retirar do estudo a qualquer momento;
- Idade menor que 18 anos ou maior que 30 anos;
- Falta nos treinos;
- Tabagismo;
- Etilismo;
- Histórico positivo para diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, doença renal, doença hepática, doença muscular, doenças de depósito ou outras doenças crônicas e/ou degenerativas;
- Participação em outro estudo, de qualquer natureza envolvendo ou não suplementação dietética.

5.6 Protocolos de exercícios

Os testes físicos foram realizados nas localidades da Faculdade de Educação Física da Unicamp (campo de futebol), todos pautados em referenciais reconhecidos pela literatura científica, com a aplicação antecipada do PAR-Q ("Questionário de Prontidão para Atividade

Física", (ANEXO 1), ferramenta utilizada para a verificação da prontidão de atividade física recomendada pela ACSM (American College of Sports Medicine). Além, deles serem protocolados e realizados por profissionais qualificados, visando o máximo de beneficência aos sujeitos e com a minimização máxima de qualquer risco oriundo destes.

Para a realização dos exercícios optou-se pelo uso de uma bateria de testes físicos, sendo esta elaborada a partir de recomendações feitas por Marins e Giannichi (2003), no tangente: a quantidade de exercício, intensidade entre exercícios, ordem de execução, pausa entre estímulos, familiarização com os testes, balanceamento entre os grupamentos musculares envolvidos em cada teste, mesmas condições ambientais e estruturais para todos os sujeitos, etc. Assim, a bateria de testes se compôs de oito estações de exercícios que se propunham avaliar algumas das capacidades físicas, dentre elas: força (de membros inferiores e superiores), resistência (cardiorrespiratória, abdominal e de membro superior), agilidade (deslocamento corporal), velocidade (membros inferiores) e potência (membros superiores e inferiores). Abaixo encontram-se descritos os protocolos dos testes físicos na ordem em que foram aplicados:

5.6.1 Teste de Agilidade de SEMO

Descrito por JOHNSON E NELSON (1979), este teste visa mensurar a agilidade geral do corpo, que por sua vez é considerada como um componente neuro-motor caracterizado pela troca rápida de direção, sentido e deslocamento da altura do centro de gravidade de todo o corpo ou parte dele.

Para a realização do teste usou-se uma área de 3,65 metros por 5,80 metros demarcada por cones, na qual o avaliado iniciou o teste em pé, atrás da linha de partida, de costas para o cone "A" (figura 2). Dado o comando, o avaliado deslocou-se lateralmente até o cone "B", passando por fora do cone e se deslocando de costas até o cone "D", contornando-o. Em seguida, corre-se de frente até o cone "A", contornando-o por fora; corre-se de costas até o cone "C" contornando-o por dentro. Depois, corre-se de frente do cone "C" até o cone "B" passando-o por fora e por fim deslocando-se lateralmente do cone "B" até o cone "A", momento no qual se cronometra o tempo utilizado para a realização deste percurso. Registram-se as marcas de três tentativas.

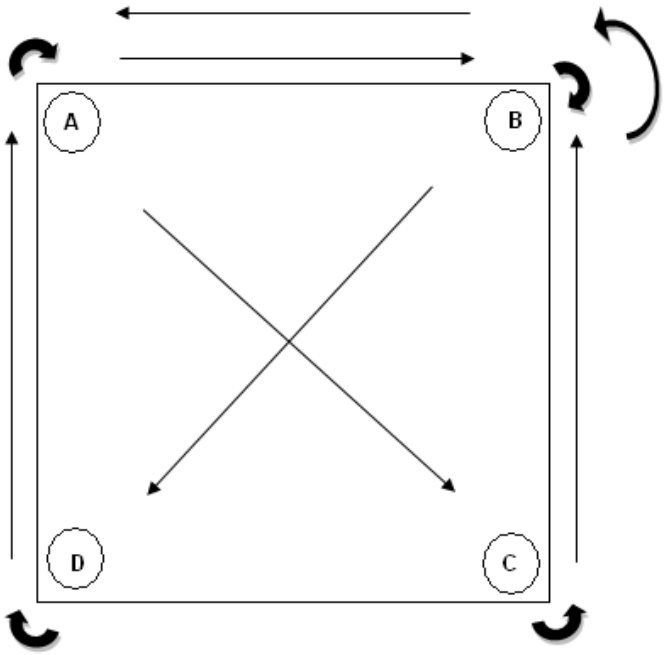


Figura 2 - trajetória de deslocamento de agilidade

JOHNSON E NELSON (1979) recomendam ainda, que os avaliados durante o teste não cruzem os membros inferiores no deslocamento lateral; que no deslocamento de costas mantenha-se as costas perpendicular a linha imaginária até o cone e que o avaliado familiarize-se com o teste antes de iniciá-lo.

A figura 3 a seguir demonstra os dados obtidos referentes aos voluntários da equipe de futebol da LAU, no que diz respeito aos valores da média tanto do grupo experimental quanto do controle no teste de agilidade:

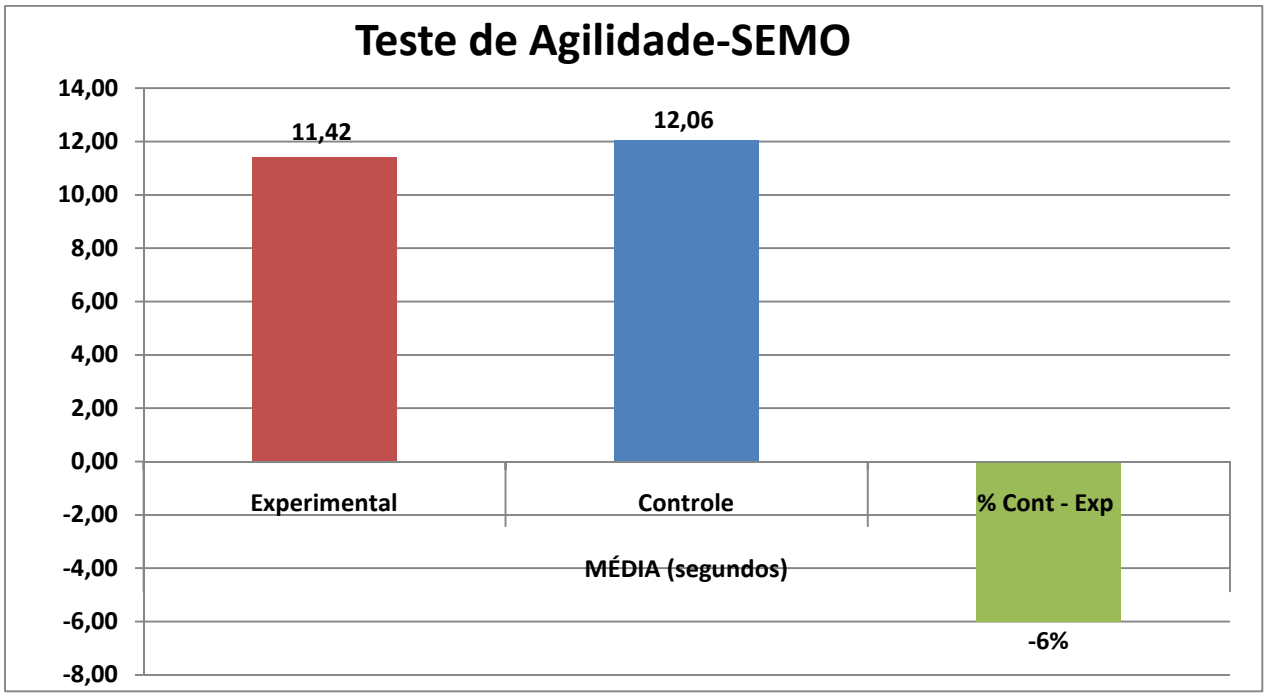


Figura 3 – Médias dos grupos (experimental e controle) e diferença percentual entre elas, para o teste de agilidade.

Comparando-se as médias dos dois grupos constata-se que há um melhor desempenho dos jogadores do grupo experimental (11,42 segundos) quando comparados ao grupo controle (12,06 segundos), verificando-se uma diferença de desempenho em torno de 6% abaixo, do grupo controle em relação ao experimental.

5.6.2 Teste de flexão e extensão dos cotovelos

Segundo MORROW et al (2003), a partir do Canadian Standardized Test of Fitness, por intermédio deste teste obtêm-se a endurance e força dos membros superiores, sendo que o objetivo é realizar o maior número possível de flexões e extensões do cotovelo até a exaustão.

Descrição do teste: o avaliado iniciou o teste em decúbito ventral sobre um colchonete, apoiado nas pontas dos pés e nas mãos, estas posicionadas na linha dos ombros, com os cotovelos em extensão. Ao sinal do avaliador o avaliado realizou flexões e extensões dos cotovelos no plano transversal até que o tórax se aproximasse do solo. Neste teste levou-se em consideração a

execução dos movimentos em ritmo constante. Os valores referenciais comparativos são fornecidos em função da idade e do nível de condicionamento, na tabela a seguir:

TABELA 1

Teste de flexão e extensão de cotovelos (nº de repetições)

Homens	**Idade (anos)**					
Classificação	**15-19**	**20-29**	**30-39**	**40-49**	**50-59**	**60-69**
Excelente	+39	+36	+30	+22	+21	+18
Acima da Média	29-38	29-35	22-29	17-21	13-20	11-17
Médio	23-28	22-28	17-21	13-16	10-12	8-10
Abaixo da Média	18-22	17-21	12-16	10-12	7-9	5-7
Fraco	-17	-16	-11	-9	-6	-4

Fonte: Nieman, 1995.

Na figura 4 abaixo têm-se os valores das médias encontradas tanto do grupo controle quanto do experimental, no tangente a endurance e força de membros superiores.

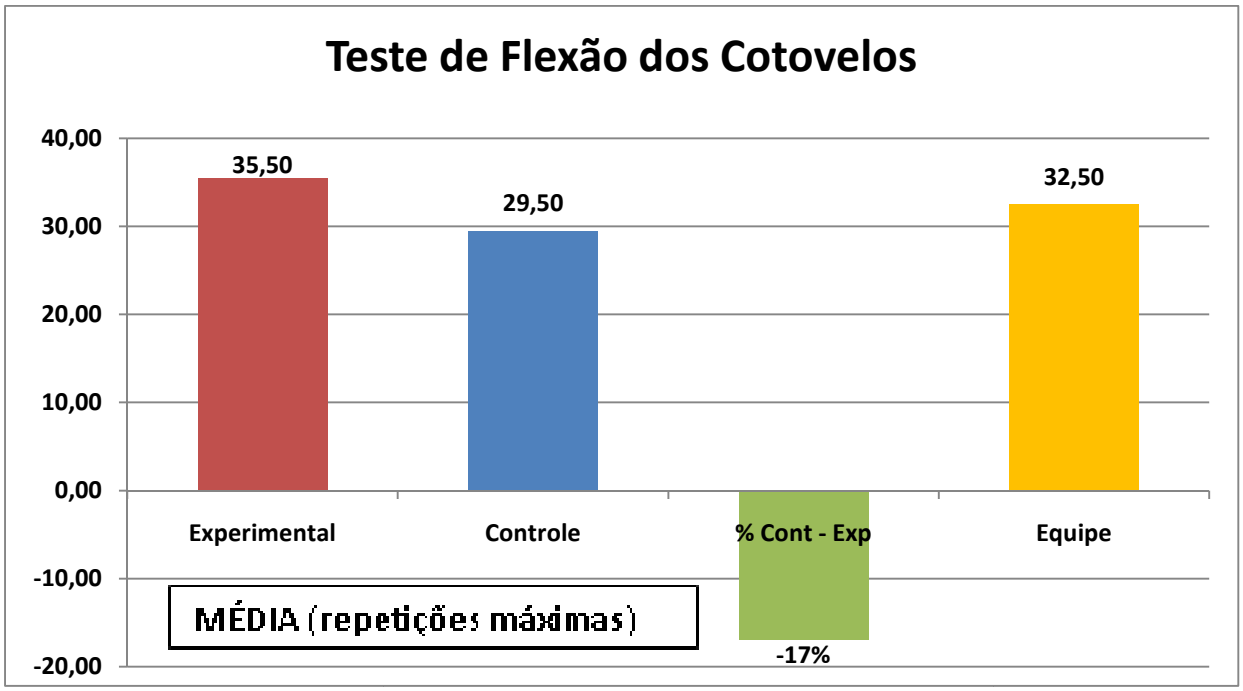


Figura 4 – Médias dos grupos (experimental e controle) para flexão de cotovelos, diferença das médias e média da equipe.

De acordo com a tabela 1, e, tendo em vista que todos os voluntários estavam na faixa etária dos 20 aos 29 anos de idade, verifica-se que a média do grupo experimental (35,5 repetições) se encontra numa faixa de transição da classificação proposta pelos autores, de "Acima da Média" para "Excelente"; enquanto que o grupo controle (29,5) se encontra na classificação "Acima da Média". Pode-se verificar também que o desempenho do grupo controle é 17% inferior a do grupo experimental, que fez com que a média da equipe (32,5 repetições) ficasse classificada como, "Acima da Média.

5.6.3 Teste de corrida de 30 metros

De acordo com MARINS E GIANNINCHI (2003), o presente teste tem como objetivo medir a capacidade de aceleração do indivíduo, uma vez que a máxima velocidade alcançada, dependente de treinamento, se encontra entre 25 e 30 metros de distância. O teste consiste basicamente em percorrer tal distância em trajetória retilínea no menor tempo possível, sendo que

para a mensuração do tempo de cada jogador utilizou-se de células foto-elétricas acopladas a um computador, dispostas na linha de saída e chegada do teste. Equipamento este que permitiu registrar além do tempo total percorrido, o tempo de reação de saída de cada jogador e a determinação da velocidade média no intervalo da medição. Cada jogador realizou três tentativas.

POPOV (1986), na tabela a seguir, apresenta valores de referência na aplicação do teste de 30 metros em uma população búlgara.

TABELA 2

Teste de 30 metros numa população búlgara

Saída Parada (tempo)	
Orientação Desportiva	
(14 anos)	4s35 – 4s40
Especialização Desportiva	
(15 anos)	4s20 – 4s25
(16 anos)	4s15 – 4s20
Aperfeiçoamento Desportivo	
(17 anos)	4s10 – 4s15
(18 anos)	4s05 – 4s10
Alta competição	4s00 – 4s04
	2s70 – 2s74

Fonte: Popov, 1986.

Na figura 5 abaixo têm-se os valores das médias encontradas tanto do grupo controle quanto do experimental, no tangente a velocidade em função do tempo.

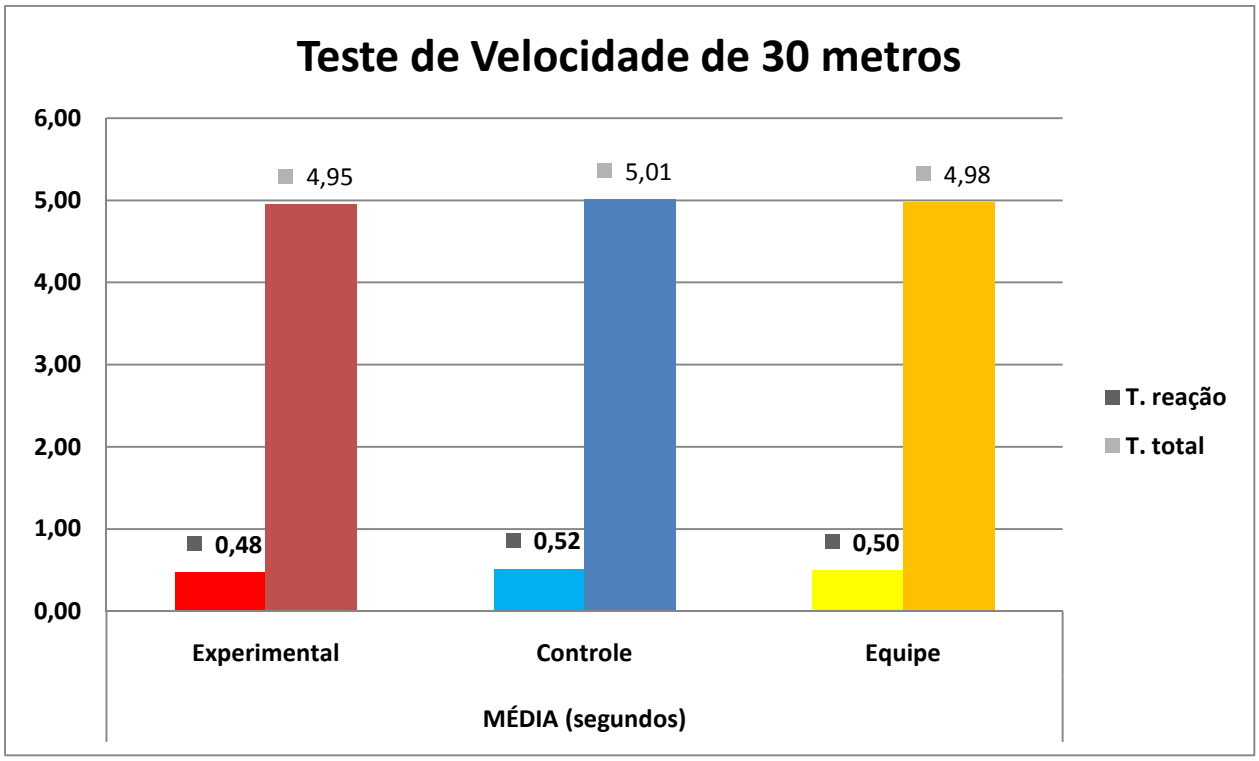


Figura 5 – Médias dos tempos de reação e total dos grupos controle, experimental e da equipe de futebol da LAU.

Nota-se que no teste de velocidade a diferença nas médias entre o grupo controle e experimental são mínimas, tanto para os tempos de velocidade de reação quanto para o tempo de velocidade total. Consequentemente, a média de tempo da equipe se mostrou bem homogênea. Entretanto, ao comparar esses dados com os obtidos na tabela 2 por POPOV (1986), nota-se uma grande dissonância, uma vez que esses dados estão bem acima dos valores considerados bons pelo autor. Sendo que uma possível explicação para este fenômeno se atente ao fato de que o "n" do presente estudo não tenha sido o desejável. Além de outros fatores como, parâmetros comparativos populacionais bem diferentes, faixas etárias um pouco heterogêneas, especificidade da modalidade, tipo de piso, condições climáticas, etc.

5.6.4 Teste de Arremesso de Medicine Ball

Também descrito por JOHNSON E NELSON (1979), este teste visa mensurar a potência de membros superiores e cintura escapular. E seguindo as recomendações desses, os avaliados realizaram assentados em uma cadeira, segurando uma bola de medicine Ball (3 quilos) contra o peito com as duas mãos e logo abaixo do queixo e com os cotovelos próximos ao tronco, um arremesso da bola o mais distante possível. A fim de assegurar que somente a parte superior do corpo fosse avaliada, colocou-se uma corda na altura do peito do testando para mantê-lo seguro à cadeira e eliminando uma possível ação de embalo do tronco ou qualquer outra parte do corpo durante o arremesso. Foi computada a distância, em centímetros, de três tentativas executadas pelo avaliado, sendo mensurada a distância entre o primeiro ponto de contato da medicine ball com o solo e os pés dianteiros da cadeira. Segue a classificação referencial proposta pelos autores supra-citados:

TABELA 3

Teste de Arremesso de Medicine Ball

Masculino (cm)	Nível de Performance	Feminino (cm)
763-acima	**Avançado**	428-acima
611-762	**Intermediário Avançado**	367-427
367-610	**Intermediário**	214-366
275-366	**Iniciante Avançado**	123-213
0-274	**Iniciante**	0-122

Fonte: Johnson e Nelson, 1979

Encontra-se abaixo, na figura 6, os valores das médias encontradas no teste de arremesso de medicine ball, no que tange a potência de membro superior.

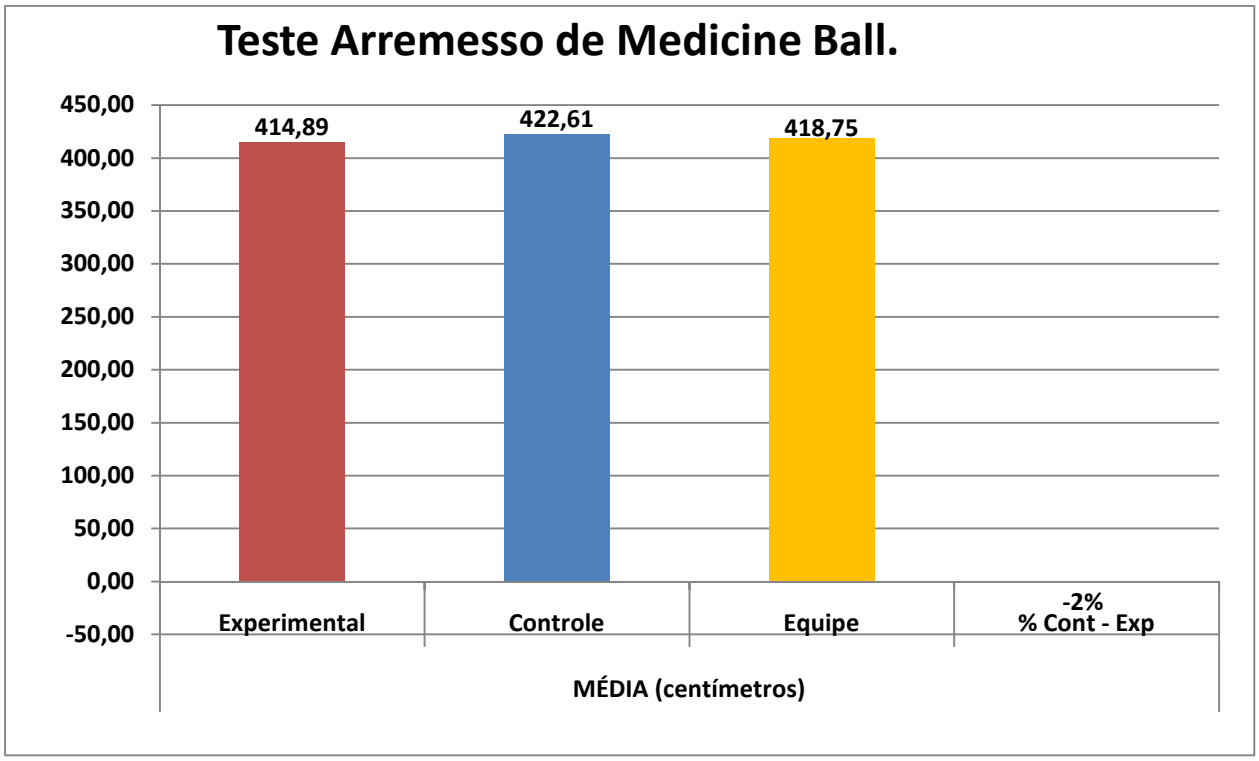


Figura 6 – Médias dos arremessos dos grupos experimental, controle e equipe; diferença das médias entre os 2 primeiros grupos.

Verifica-se que no teste de arremesso de medicine ball não há uma diferença significativa entre as médias do grupo controle (422,16 cm) com a do experimental (414,89), constatando uma diferença do grupo experimental para o grupo controle em torno de 2% apenas. Consequetemente, a média de distância dos arremessos da equipe (418,75 cm) se mostraram bem homogêneas. Assim, de acordo com a tabela 2, nota-se que a classificação do nível de desempenho em função do gênero para ambos os grupos se encontram no nível classificatório, "Intermediário".

5.6.5 Teste de Força Abdominal

A realização deste teste pautou-se nas recomendações feitas por POLLOCK e WILMORE 1993, que tem como objetivo medir a força/resistência e eficiência dos músculos abdominais e flexores do quadril. Para tal, os avaliados colocaram-se em decúbito dorsal sobre colchonetes, com o joelho flexionado a 90º, com os dedos das mãos entrelaçados sob a nuca, com as plantas dos pés em contato pleno com o chão e sendo segurados nos tornozelos (como forma de fixação) pelo avaliador. Posteriormente, executaram-se flexões do tronco, encostando os cotovelos na coxa e retornando a posição inicial. Os avaliados tiveram 1 minuto para realizar o maior número de repetições; foram também orientados a fazerem suas repetições sem pausa entre um abdômen e outro; sem deixarem as mãos ou a mão perder contato com a cabeça; e ao reassumir a posição deitado ter um pleno contato do tronco e da cabeça com o solo. Segue uma tabela referencial proposta pelos autores acima citados:

TABELA 4

Teste abdominal em homens – nº de repetições máximas em 1 minuto

Idade (anos)	Excelente	Bom	Médio	Regular	Fraco
15-19	≥ 48	42-47	38-41	33-37	≤ 32
20-29	≥ 43	37-42	33-36	29-32	≤ 28
30-39	≥ 36	31-35	27-30	22-26	≤ 21
40-49	≥ 31	26-30	22-25	17-21	≤ 16
50-59	≥ 26	22-25	18-21	13-17	≤ 12
60-69	≥ 23	11-22	12-16	07-11	≤ 06

Fonte: Pollock e Wilmore, 1993.

Encontra-se na figura 7 abaixo, os valores das médias e os desvio padrões obtidos no teste de abdominal tanto do grupo controle quanto do grupo experimental, no que diz respeito a força e resistência da musculatura abdominal e dos flexores do quadril.

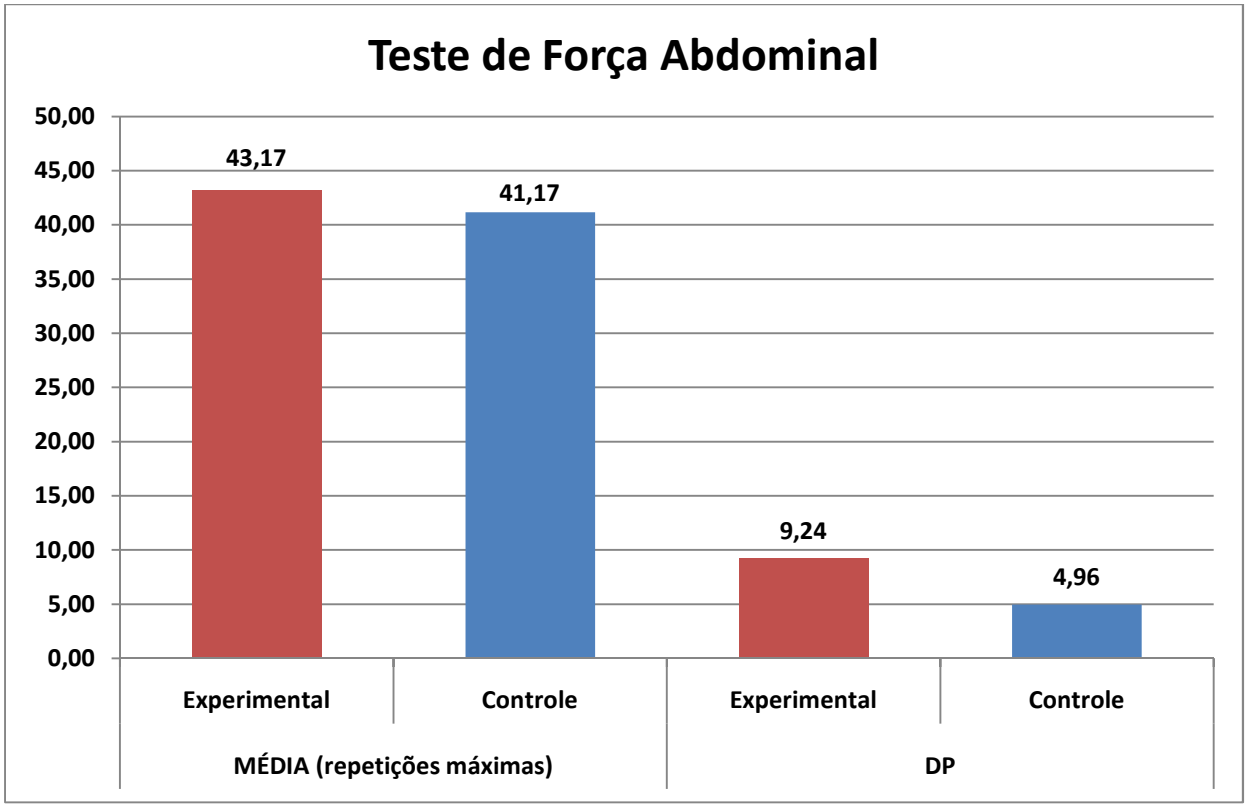


Figura 7 – Médias e desvio padrão dos grupos experimental e controle referentes a capacidade abdominal.

De acordo com a tabela 4, que trás valores referenciais para o teste de abdominal com o máximo de repetições em 1 minuto, em função do nível de desempenho e faixa etária, verifica-se que apesar das diferenças das médias serem relativamente baixas, o grupo experimental (43,17) se encontra no nível de classificação desempenho "Excelente", enquanto que o grupo controle se encontra (41,17) no nível de classificação de desempenho "Bom".

É importante ressaltar que os resultados obtidos neste teste apresentaram uma baixa variação do desvio padrão (DP), tanto do grupo experimental como do grupo controle, e mesmo tendo o "n" do estudo abaixo do desejado, pôde-se verificar a partir da análise estatística feita por intermédio do teste "t" de Student, o registro de um nível de significância abaixo do critério estabelecido, de $p < 0,05$, mas precisamente de 0,049 percentuais (Apêndice 2), porém não se pode inferir com certeza que essa resposta é causa direta da suplementação, uma vez que apenas neste observou-se diferença significativa.

5.6.6 Teste de Salto Horizontal

Descrito por JOHNSON E NELSON 1979, este teste visa mensurar a potência de membros inferiores. Para a realização do teste os avaliados partiram da posição em pé, com os pés paralelos e em pequeno afastamento lateral. Detrás da linha de partida saltou-se a maior distância possível a frente impulsionada por ambas as pernas e com a ajuda do balanço dos braços. Mediu-se a distância da linha de partida e a parte do corpo que estava mais próxima desta linha, considerando a melhor marca de três tentativas. ROCHA e CALDAS (1978) apresentam abaixo, uma classificação referencial para o teste de salto horizontal.

TABELA 5

Teste Salto Horizontal

Classificação	Resultados (metros)
Fraco	< 2,30
Regular	2,30 – 2,49
Bom	2,49 – 2,69
Muito Bom	2,70 – 2,89
Excelente	>2,70

Fonte: Rocha e Caldas, 1978

Segue abaixo, na figura 8, os valores obtidos das médias e dos desvios padrões encontrados no teste de salto horizontal, no tangente a potência de membros inferiores.

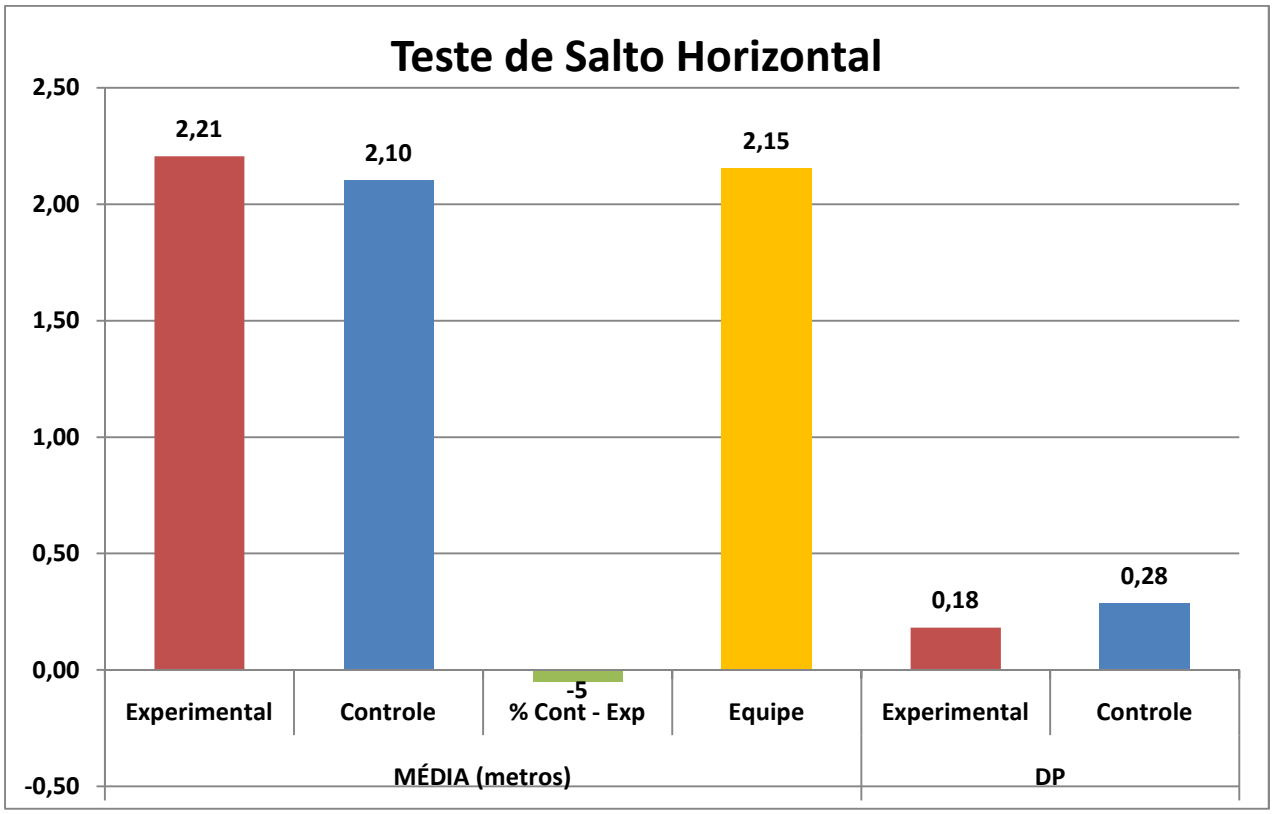


Figura 8 – Médias de salto dos grupos (Exp. - Cont.), diferença % entre eles; média da equipe; desvios padrões dos grupos.

De acordo com a tabela 6, verifica-se que as médias de ambos os grupos, assim como a média da equipe (2,15 metros) se enquadram bem abaixo dos valores encontrados por ROCHA e CALDAS (1978), sendo eles classificados com um nível de desempenho "Fraco"; hipoteticamente pode-se dizer que o baixo desempenho dos jogadores, se deve ao fato da especificidade do movimento não ter uma relação tão direta com a prática do futebol, no entanto há de salientar que quanto mais adaptações o jogador tiver no seu repertório motor, maior será a probabilidade destas em se tornarem benefícios para uma futura execução de um determinado movimento requerido numa atividade qualquer.

Em relação as médias, constata-se que o grupo controle (2,10 metros) apresenta um desempenho 5% inferior quando comparado com o grupo experimental (2,21 metros). Entretanto, ao se calcular o desvio padrão dos dois grupos, ambos tiveram valores elevados. Com isso, a análise estatística das variáveis feita a partir do teste "t" de Student, registrou que o nível de significância entre os grupos ficou acima do critério pré-estabelecido de $p < 0,05$.

5.6.7 Teste de Banco para VO_2 máximo

Para o teste de capacidade máxima de consumo de oxigênio (VO_2 máx) utilizou-se do protocolo de banco desenvolvido por KATCH e MCARDLE (1984), que é constituído basicamente pelos seguintes pontos: carga de subir e descer um banco de 41 cm de altura (altura esta coincidente, com a proposta de SOUSA (2001) no tangente à altura de banco e estatura dos avaliados, frente aos voluntários do presente estudo); o tempo de duração do teste é de 3 minutos; a freqüência de passadas corresponde ao ritmo de 24 passos por minutos (cadência controlada por intermédio de um metrônomo) para homens; ao final do terceiro minuto, o avaliado permanece em pé, enquanto que a freqüência cardíaca é aferida (mensurada através de frequencímetro) num intervalo de 15 segundos, começando 5 segundos após a interrupção do teste. A freqüência cardíaca computada é colocada na fórmula a seguir, para conseguinte obtenção em $ml/(kg/min)^{-1}$, do VO_2máx do avaliado:

Homens → VO_2máx= 111,33 – 0,42 x freqüência cardíaca do final do teste

Fonte: Katch e McArdle, 1984

Após a obtenção do VO_2máx, KATCH e MCARDLE (1984), propõem valores comparativos referenciais em função da idade e nível de capacidade aeróbia do indivíduo.

TABELA 6

Capacidade aeróbia de consumo máximo de O_2 em (ml/kg/min^{-1})

Idade	Baixo	Razoável	Médio	Bom	Excelente
20-29	≤ 37	38-41	42-50	51-55	≥ 56
30-39	≤ 33	34-37	38-42	43-50	≥ 51
40-49	≤ 29	30-35	36-40	41-46	≥ 47
50-59	≤ 25	26-30	31-38	39-42	≥ 43
60-69	≤ 21	22-25	26-33	34-37	≥ 38

Fonte: Sousa, 2001.

Encontram-se na figura 9 abaixo, os valores das médias obtidas no teste de banco, tanto do grupo controle quanto do grupo experimental, no que se refere a capacidade máxima de consumo de oxigênio (VO_2 máx) obtida a partir do cálculo da freqüência cardíaca.

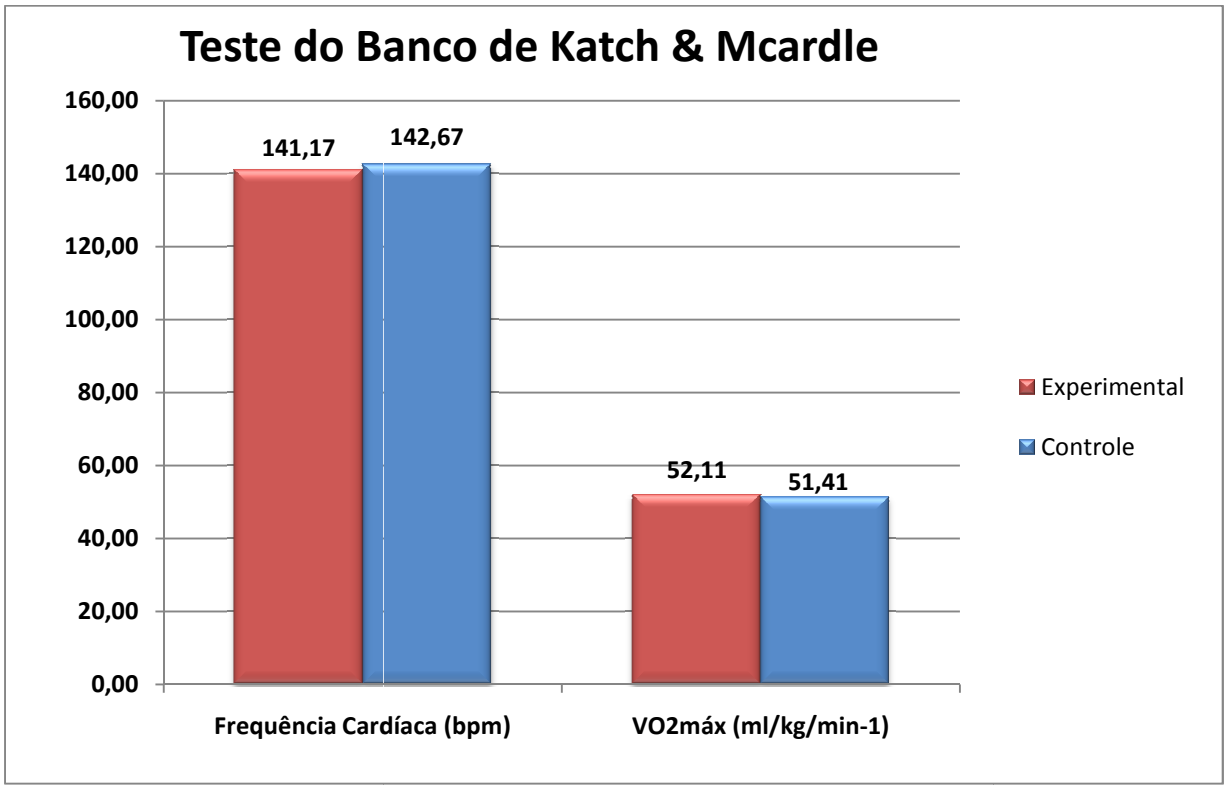


Figura 9 – Médias da freqüência cardíaca e do VO2máximo dos grupos experimental e controle.

De acordo com a tabela 6, e, tendo em vista que todos os voluntários estavam na faixa etária dos 20 aos 29 anos de idade, verifica-se que tanto o grupo experimental (52,11 ml/(kg/min)$^{-1}$) quanto o controle (51,41 ml/(kg/min)$^{-1}$) possuem uma classificação do VO_2máx, em função da idade, de nível "Bom", e, que a diferença de desempenho entre os grupos, levando em consideração apenas as médias, ficam em torno de 1%.

5.6.8 Teste de corrida de 2.400 metros (Cooper)

Desenvolvido por COOPER (1982), esse teste tem como objetivo obter mais uma variável da avaliação funcional do sujeito oferecendo mais um parâmetro comparativo de sua capacidade aeróbia. Segundo Marins e Giannichi (2003), este teste é perfeitamente adequado as modalidades de jogos com bola. O teste consiste basicamente em cronometrar o tempo gasto pelo avaliado para percorrer a distância de 2400 metros (distância essa, equivalente a 10 voltas em demarcação retangular de 80 x 40 metros feita no campo de futebol da FEF), assim quanto menor for o tempo realizado no percurso maior será a capacidade aeróbia do sujeito. Com o resultado apurado, COOPER (1982), dispõe na tabela 7, valores referenciais (quantificados em minutos) comparativos em função do sexo, idade e nível de capacidade aeróbia:

TABELA 7

Teste de Corrida de 2.400 metros (Cooper)

	Idade (anos)					
Categoria Capacidade Aeróbica	**13-19**	**20-29**	**30-39**	**40-49**	**50-59**	**60 ou mais**
I-M. Fraca						
(homens)	>15:31	>16:01	>16:31	>17:31	>19:01	>20:01
(mulheres)	>18:31	>19:01	>19:31	>20:01	>20:31	>21:31
II- Fraca						
(homens)	12:11-15:30	14:01-16:00	14:44-16:30	15:36-17:30	17:01-19:00	19:01-20:00
(mulheres)	16:55-18:30	18:31-19:00	19:01-19:30	19:31-20:00	20:01-20:30	21:00-21:30
III-Média						
(homens)	10:49-12:10	12:01-14:00	12:31-14:45	13:01-15:35	14:31-17:00	16:16-19:00
(mulheres)	14:31-16:54	15:55-18:30	16:31-19:00	17:31-19:30	19:01-20:00	19:31-20:30
IV-Boa						
(homens)	9:41-10:48	10:46-12:00	11:01-12:30	11:31-13:00	12:31-14:30	14:00-16:15
(mulheres)	12:30-14:30	13:31-15:54	14:31-16:30	15:56-17:30	16:31-19:00	17:31-19:30
V-Excelente						
(homens)	08:37-09:40	09:45-10:45	10:00-11:00	10:30-11:30	11:00-12:30	11:15-13:59
(mulheres)	11:50-12:29	12:30-13:30	13:00-14:30	13:45-15:55	14:30-16:30	16:30-17:30
VI-Superior						
(homens)	< 08:37	< 09:45	< 10:00	< 10:30	< 11:00	< 11:15
(mulheres)	< 11:50	< 12:30	< 13:00	< 13:45	< 14:30	< 16:30

Fonte: Cooper, 1982.

Segundo VIVACQUA e HESPANHA (1992), pode-se obter com o presente teste um escore em unidade metabólica, através da fórmula proposta pelo American College Sport Medicine (ACSM), a seguir:

VO_2 máx. ml $(kg.min)^{-1}$ = (Distância em metros x 60 x 0,2) + 3,5 ml $(kg.min)^{-1}$ / Duração em segundos

Na figura 10 a seguir, encontram-se os valores das médias obtidas no teste de corrida de 2400 metros (Cooper), tanto do grupo controle quanto do grupo experimental, no que se refere a capacidade máxima de consumo de oxigênio (VO_2 máx) obtida em função do tempo frente a distância percorrida.

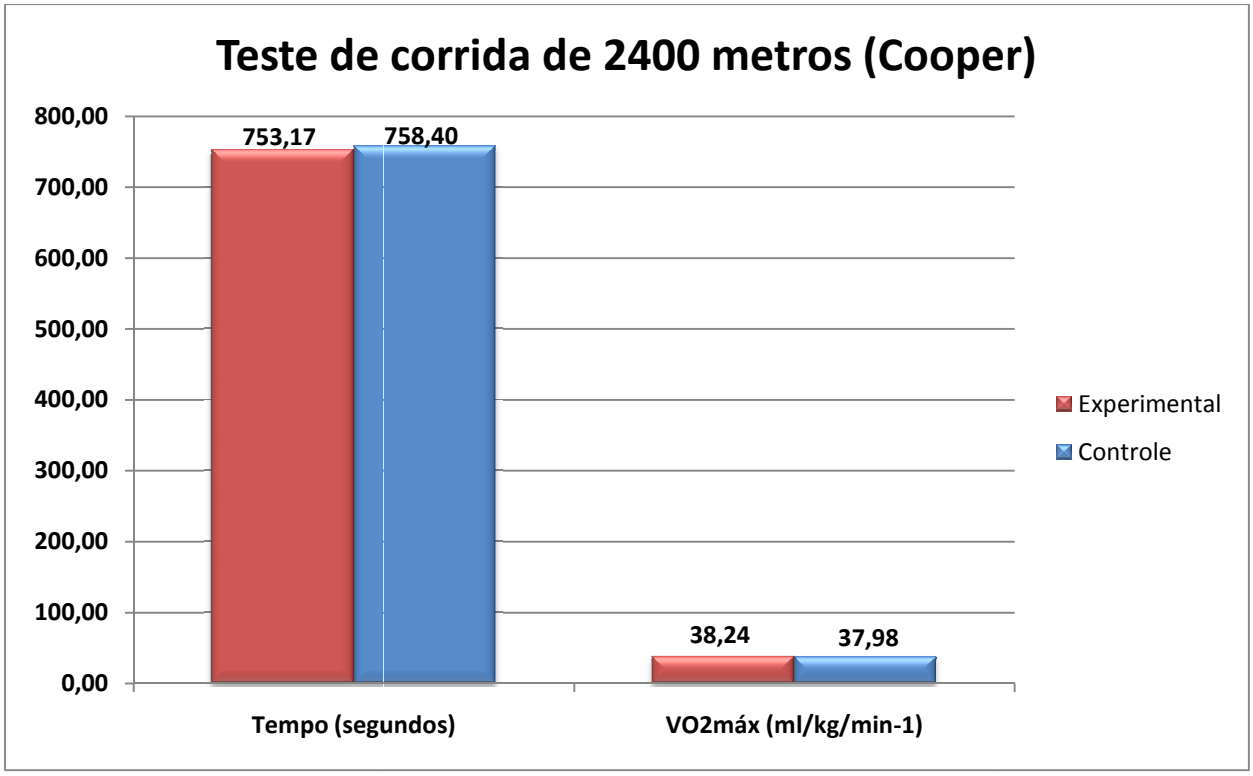


Figura 10 - Médias de tempo de percurso e do VO_2máximo dos grupos experimental e controle.

De acordo com a tabela 8, e, tendo em vista que todos os voluntários estavam na faixa etária dos 20 aos 29 anos de idade, verifica-se que tanto o grupo experimental (753,17 segundos – em torno de 12 minutos e 33 seundos) quanto o controle (758,40 segundos – em torno de 12 minutos e 38 segundos) possuem uma classificação de capacidade aeróbia "Média", e, que a

diferença de desempenho entre os grupos, levando em consideração apenas as médias, ficam em torno de apenas 1%. Vale salientar que as médias obtidas para o VO_2máx, segundo a fórmula proposta pelo ACSM, do grupo experimental (38,24 ml/(kg/min)$^{-1}$) e do grupo grupo controle (37,98 ml/(kg/min)$^{-1}$) ficaram abaixo dos resultados obtidos no teste de banco proposto por Katch e Mcardle (1984), que apesar de usufruírem de meios diferentes, têm a mesma finalidade de análise das variáveis. Sendo que uma possível hipótese para a explicação desse fenômeno se deve ao fato dos voluntários estarem relativamente mais cansados fisicamente ao realizarem o protocolo de Cooper, uma vez que esta estação se encontrava na última etapa da bateria de testes proposta no presente trabalho, no entanto, apenas com esses dados não podemos definir com convicção essa hipótese, já que todas as recomendações feitas para a elaboração de bateria de testes físicos foram levadas em consideração.

5.7 Equipamentos utilizados para coleta de dados dos testes físicos

- ✓ Monitor de freqüência cardíaca – composição do material – Aparelho monitor de freqüência cardíaca, modelo accurex de marca POLAR. Instrumento com capacidade de cronometrar, limitar a zona alvo, e registrar os tempos de freqüências cardíacas necessários durante o teste, com renome e reconhecimento na área de avaliação física graduado em milésimos de segundo.
- ✓ Cronômetro ou relógio – composição do material – Aparelhos de marca Timex reconhecida e padronizada pela comunidade científica que se utiliza deste material nos testes, sendo graduado em milésimos de segundo.
- ✓ Metrônomo – composição material - aparelho de fabricação americana (Groovin, USA - Design), modelo GMT-200P, sistema digital para demarcação da cadência de movimento do teste de banco.
- ✓ Células Foto-elétricas – composição material – aparelho de fabricação nacional, marca "Compass", composto por coletores (fotocélulas) que detectam a presença de objetos sólidos quando colocados na trajetória do seu feixe luminoso registrando a demarcação de

tempo. Conjunto de equipamento constituído por tripés, coletores, cabos de alimentação e interface para o computador, bateria e software (“Encontec”) para leitura de dados. Este equipamento foi utilizado para determinar o tempo (podendo também quantificar a velocidade e aceleração) necessário para percorrer uma distância definida.

- ✓ Colchonetes – composição material – revestimento em “Napa Cicap”, com densidade aglomerada AG100, com medidas de comprimento/largura/espessura – 95x44x3 centímetros e de marca Life Zone, apropriado para a prática de ginástica localizada. Neste caso, foram utilizados nos testes de abdominal e de flexão de cotovelos.
- ✓ Medicine Ball – composição material – revestimento emborrachado, com peso de 3 quilogramas, com uma circunferência de 27 centímetros e marca “Torian”; apropriada para a execução de diferentes tipos de exercício. Sendo, utilizada para o teste de arremesso de medicine Ball.
- ✓ Fita métrica/ Trena – composição material – trena de fibra com comprimento máximo de 50 metros, modelo L500 e da marca “LUFKIN”, equipamento apropriado para a realização de todas as medidas usadas no presente trabalho.
- ✓ Banco – composição material – primeiro degrau do “plinton”, equipamento confeccionado em madeira de cedrinho composto de 5 degraus, sendo que o 1º degrau é acolchoado e possui uma altura aproximada de 41 centímetros. Implemento utilizado para o teste de banco.

5.8 Coletas de sangue e dosagem das amostras

A coleta de sangue foi realizada na Faculdade de Educação Física da Unicamp, em torno de 48 horas após a aplicação dos testes físicos, tempo esse estimado pela literatura para melhor obtenção de resultados referentes às variáveis aqui analisadas, principalmente no tangente aos marcadores de dano muscular (BRANCACCIO et al, 2007). O local para a coleta foi apropriado, seguindo o protocolo e cuidados de higiene, assepsia e contaminação. O sangue foi coletado em tubos de 10 ml, e em seguida, centrifugado por 15 minutos, a 9000 x rpm para separação do plasma das células sanguíneas, sendo o primeiro utilizado para análises bioquímicas.

5.8.1 Creatina quinase (CK)

Conhecida também pelo nome de creatina fosfoquinase (CPK ou CK), esta enzima é um dímero composto por subunidades derivadas do músculo (M) ou do cérebro (B), apresentando quatro isoenzimas. A CK-MM está presente nos músculos esqueléticos e em pequenas quantidades no músculo cardíaco, CK-BB presente no cérebro, a CK-MB encontrada principalmente no coração e a CK-MT, enzima mitocondrial, que responde por até 15% da atividade de CK cardíaca (KRAMER E HOFFMANN, 1997). No soro, a CPK normal é constituída predominantemente pela isoenzima CK-MM. Observam-se níveis aumentados de CPK no soro em doenças do músculo esquelético, particularmente na distrofia muscular, reação enzimática apresentada a seguir.

$$\text{Creatinofosfato} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{CK}} \text{creatina} + \text{ATP}$$

$$\text{ATP} + \text{D-glicose} \xrightarrow{\text{HK}} \text{ADP} + \text{G6P}$$

$$\text{G6P} + \text{NADP}^{+} \xrightarrow{\text{G6PDH}} \text{D-6-fosfogliconato} + \text{NADPH} + \text{H}^{+}$$

✓ **Reagentes (Ebram) e equipamentos:**

- Tampão: Imidazol 104 mmol/L; EDTA 2,08 mmol/L; acetato de magnésio 10,4 mmol/L; D-Glicose 20,8 mmol/L; pH 6,6 (1 x 27,5 mL).
- Substrato: anticorpos monoclonais Anti-CK-M capazes de inibir 1000 U/L de CKM humana, creatina fosfato 31,2 mmol/L, ADP 2,08 mmol/L, AMP 5,2 mmol/L, P1, P5-di (adenosina-5'-pentafosfato) 10,4 mmol/L, NADP 2,08 mmol/L, Nacetilcisteína 20,8 mmol/L, hexoquinase >3120 U/L, glicose-6-fosfato desidrogenase >2080 U/L (Uma vez reconstituído 10 x 2,5 mL).
- Água destilada ou desionizada
- Banho-maria (Fanem®, São Paulo, Brasil).
- Cronômetro
- Espectrofotômetro (Roche® Diagnostics System Corp., Indianápolis, IN, E.U.A.).
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis

- Vidraria

✓ **Procedimento**

- Reconstituir o conteúdo do Substrato com exatamente 2,5 mL do Tampão e homogeneizar suavemente. Aguardar por 5 minutos até a completa solubilização do reagente.

✓ **Dosagem:**

- Pré-aquecer o espectrofotômetro e o reagente de trabalho a 37ºC;
- Acertar o zero do espectrofotômetro com água destilada ou deionizada.
- Pipetar em uma cubeta termostatizada a 37ºC:

Método	Macro	Micro
Amostra	40µL	20µL
Reagente de trabalho	1,0 mL	0,5 mL

- Homogeneizar rapidamente e inserir em um porta-cubetas termostatizado a 37ºC e acionar o cronômetro.
- Ler e registrar a absorbância inicial (A10) em 340 nm e após 10 minutos
- Aguardar 5 minutos e realizar nova leitura (A15).
- Calcular a diferença entre as absorbâncias, (AA), que será usada nos cálculos.

AA/min =(A15) - (A10).

✓ **Cálculos:** considerando que o coeficiente de absorção molar do NADPH a 340 nm é 6. 300 e que a concentração catalítica de CK-MB é o dobro da concentração catalítica de CK-B, deduz-se a seguinte fórmula para calcular a concentração catalítica:

CK	MB (U/L) = AA / min × 1651
Unidades SI: CK	MB U/L × 16,67 = nkat/L

5.8.2 Lactato Desidrogenase (LDH) – Kit Ebram

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\textbf{LDH}} \text{Lactato} + NAD^+$$

A LDH é amplamente distribuída no organismo encontrando-se em altas concentrações no fígado, músculo esquelético e cardíaco, rins, hemácias e outros tecidos. Lesões musculares de etiologias variadas podem estar relacionadas ao aumento da LDH, como constatado por Garcia (2000) na monitorizarão de exercício em mamíferos frente a quantificação de lesão musculares.

✓ **Reagentes (Ebram) e equipamentos:**

- Tampão: Tris 100 mmol/L, piruvato 2,75 mmol/L e cloreto de sódio 222 mmol/L; pH 7,2 (1 x 40 mL).
- Coenzima: NADH 1,55 mmol/L, azida sódica 9,5 g/L. (1 x 10 mL).
- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria (Fanem®, São Paulo, Brasil)
- Cronômetro
- Espectrofotômetro (Roche® Diagnostics System Corp., Indianápolis, IN, E.U.A.).
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis
- Vidraria

✓ **Procedimentos:**

- Misturar a Coenzima NADH no Tampão em Becker e homogeneizar bem.
- Pré-aquecer o espectrofotômetro e o reagente de trabalho a 37 ºC;
- Acertar o zero do espectrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada.
- Pipetar em uma cubeta termostatizada a 37ºC como a seguir:
- Homogeneizar rapidamente e inserir em uma porta cubetas termostatizado a 37ºC e acionar o cronômetro.

- Aos 30 segundos, determinar e registrar a absorbância inicial (A0) em 340 nm e realizar novas leituras (A1, A2 e A3), em intervalos de 1 minuto durante 3 minutos.
- Comprovar que as diferenças entre as absorbâncias sejam sensivelmente iguais. - - Calcular a média das diferenças das absorbâncias (AA/min), que será usada nos procedimentos de cálculo. AA / min =(A1−A2 x A1)/A3−A2.

✓ **Cálculos:**

Considerando que o coeficiente de absorção molar do NADH a 340 nm é 6.300, deduzem-se as seguintes fórmulas para calcular a concentração catalítica:

Desidrogenase láctica (U/L) = AA/min x 8095
Unidades SI: μkat/L = U/L X 0,0167

5.8.3 Glutationa (GSH)

A concentração de glutationa reduzida nos eritrócitos é determinada por espectrofotometria através do método de Beutler et al. (1986) modificado por Penna, (1995), cujo princípio baseia-se no fato que todos os compostos não protéicos sulfidrílicos dos eritrócitos permanecem estáveis devido à presença da glutationa e que eles possuem a capacidade de reduzir o 5,5'-Dithiobis (2-ácido nitrobenzóico) (DTNB), composto dissulfídico, originando um cromóforo amarelado cuja densidade óptica pode ser determinada por espectrofotometria à 412 nm (PENNA, 1995).

✓ **Reagentes**

- **Ácido Metafosfórico:**

- Sigma, n° de catálogo: M6288

- Ácido metafosfórico.....1,67g
- Água destilada qsp.....100mL
- A solução é válida por, no máximo, 20 dias. Manter protegida da luz.

- **Solução de citrato de sódio:**

- Citrato de sódio.....1g
- Água destilada qsp.....100mL

- **5, 5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) DTNB:**

- Sigma, n° de catálogo: D8130
- DTNB.....20mg
- Solução de citrato de sódio qsp.....100mL

- **Solução de Na_2HPO_4 0,3M:**

- Na_2HPO_4.....2,13g
- Água destilada qsp.....50mL

✓ **Procedimentos**

Coletou 1mL de sangue em tubo com contendo o anticoagulante EDTA para a realização do ensaio. Em um tubo de poliestireno colocou 1,8mL de água ultra pura gelada. Em seguida, adicionou 0,2mL de sangue total e 2mL de ácido metafosfórico. Homogeneizar por inversão, aguardar cinco minutos para que a amostra precipite e filtrar em novo tubo cônico com papel de filtro Whatman nº 1, de diâmetro de 125 mm. Aliquotar 1mL do filtrado em outro tubo e adicionar 4mL de Na_2HPO_4. Posteriormente transferir 1mL deste preparado para duas cuvetas, adicionando a uma delas 100uL de DTNB.

Preparar o controle negativo (branco) com 0,5mL de ácido metafosfórico e 1,25mL de água ultra pura. Colocar 1 mL desta solução em outro tubo cônico e adicionar 4mL de Na_2HPO_4. Colocar 1mL desta solução em duas cuvetas, adicionando a uma delas 100uL de DTNB. As soluções de branco são usadas para zerar o espectrofotômetro.

Analisar as absorbâncias das quatro amostras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 412nm.

✓ **Cálculos**

- DO1: Densidade óptica da solução do paciente sem a adição de DTNB
- DO2: Densidade óptica da solução do paciente com a adição de DTNB
- 31040 ⇨ coeficiente de extinção molar do DTNB reduzido pela GSH (13600) multiplicado pelas diluições
- % Glutationa mg = (DO2 – DO1) x 31040/Hematócrito

Valores normais:

68,5 (SD 10,8) mg GSH % (em relação ao hematócrito)
6,57 ± 1,04 μmoles GSH/g Hb

5.8.4 Ácido Úrico (AU) – Kit Ebram

$$\text{Xantina} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Xantina Oxidase}} \text{Ácido Úrico} + N_2O_2$$

O ácido úrico é um produto do metabolismo das purinas (compostos nitrogenados), por ação de uma enzima. Ele é um ácido fraco e a sua forma ionizada, o urato monossódico, é a forma encontrada no plasma humano, no líquido extra-celular e na sinóvia (STRYER, 1998).

As purinas sofrem um processo de degradação em hipoxantina e esta se transforma em xantina. Por sua vez, a xantina, por ação irreversível de uma enzima denominada de xantina oxidase, se transforma em ácido úrico e este em urato de sódio. A maior parte dos uratos é produzida no fígado proveniente do desdobramento das proteínas endógenas e exógenas. Vale ressaltar que a velocidade e a quantidade de ácido úrico formado a partir das purinas dependem da xantina oxidase, quanto maior for a quantidade desta enzima maior a formação de ácido úrico (VOET e VOET, 2000).

✓ **Reagentes (Ebram) e equipamentos**

- Reagente Enzimático: Fosfato 100 mmol/L, detergente 1,5 g/L, diclorofenolsulfonato 4 mmol/L, uricase >0,12 U/mL, ascorbato oxidase >5 U/mL, peroxidase >1 U/mL, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L. PH 7,8 (2 x 50 mL).
- Padrão: Ácido úrico 6,0 mg/dL (1 x1,5 mL).
- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria (Fanem, São Paulo, Brasil)
- Cronômetro
- Espectrofotômetro Roche® Diagnostics System Corp., Indianápolis, in E.U.A.).
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis
- Vidraria

✓ **Procedimentos**

- Pipetar, em diferentes tubos de ensaio (Reagentes em temperatura ambiente):

	Branco	Amostra	Padrão
Amostra	-	20 µL	-
Padrão	-	-	20 µL
Reagente Enzimático	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37ºC durante 5 minutos, ou 10 minutos à temperatura ambiente;
- Determinar as absorbâncias do padrão e da amostra em 520 nm, acertando o zero com o branco. A cor formada é estável por 30 minutos.

✓ **Cálculos**

Fator de Calibração = 6/Abs.do Padrão

Ácido úrico (mg/dL) = Abs.da Amostra x Fator de calibração

Unidades SI: Ácido úrico (µmol/L) = ácido úrico (mg/dL) x 59,5

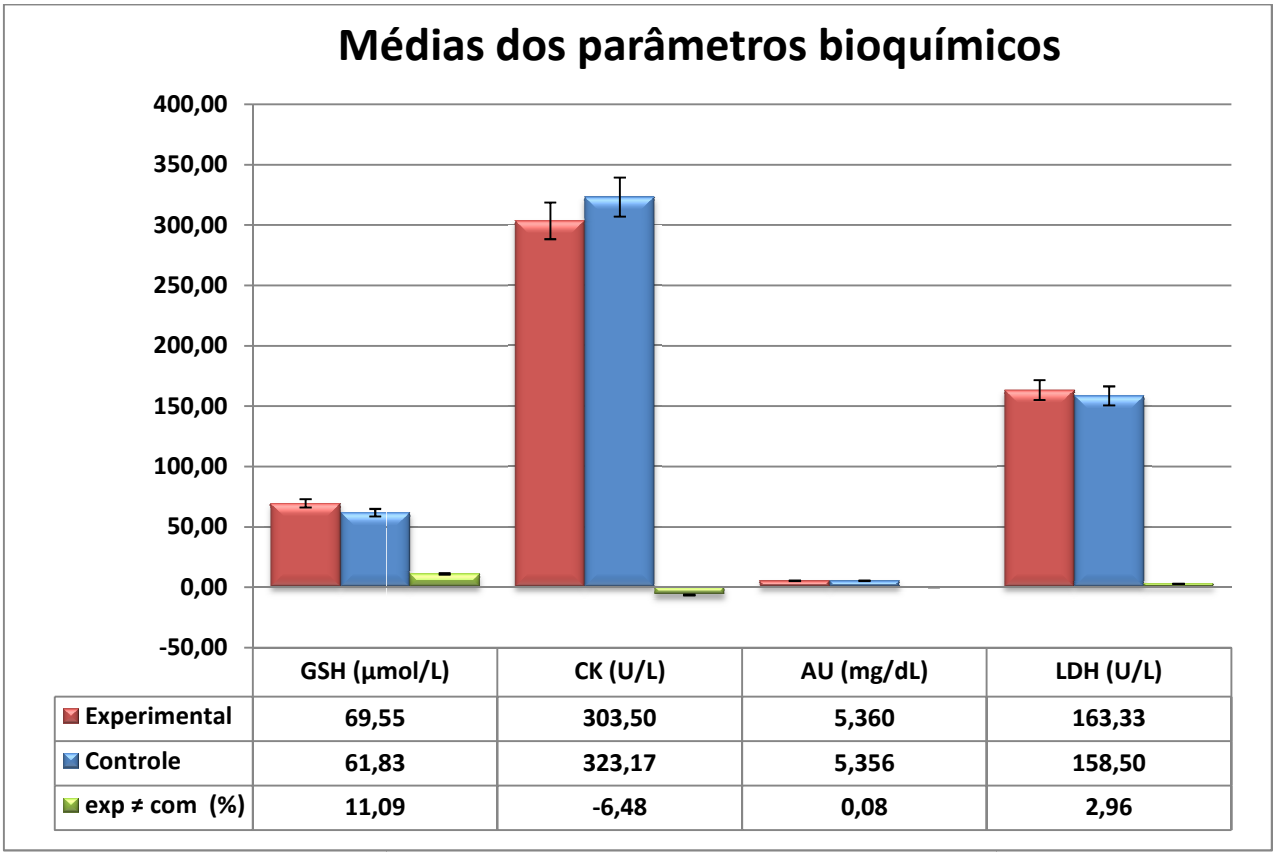
5.9 Análises Estatísticas

Para testar a hipótese do presente trabalho frente às diferenças entre duas médias populacionais, foi utilizado o Teste "t" de Student para amostras independentes, utilizando o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, Inc., versão 17.0) em todas as análises, tendo adotado como nível de significância, $p < 0,05$.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação dos testes físicos descrito nos métodos teve como objetivo induzir o organismo a reproduzir micro lesões musculares decorrentes não apenas do processo mecânico-contrátil, mas também do aspecto fisiológico oriundo de um possível efeito do EO. Para a observação do efeito da administração de suplementos antioxidantes, marcadores de dano muscular e de defesa antioxidante foram monitorados nos grupos experimental e controle, à uma equipe universitária de futebol de campo.

A figura 11 a seguir mostra o comportamento das médias e as diferenças percentuais das concentrações plasmáticas de marcadores do sistema antioxidante e de dano muscular recolhidos após a execução dos protocolos de exercícios físicos.



	GSH (µmol/L)	CK (U/L)	AU (mg/dL)	LDH (U/L)
Experimental	69,55	303,50	5,360	163,33
Controle	61,83	323,17	5,356	158,50
exp ≠ com (%)	11,09	-6,48	0,08	2,96

Figura 11 – Resultados obtidos das médias dos parâmetros de defesa do sistema antioxidante (GSH e AU) e de lesão muscular (CK e LDH), com suas respectivas diferenças percentuais.

Observa-se que as médias do grupo experimental tiveram resultados relativamente semelhantes quando comparados ao grupo controle. Entretanto, a GSH por exemplo, apresentou-se com níveis mais elevados, em torno de 11,09%, frente ao grupo controle. Podendo-se inferir que a administração de suplementos antioxidantes, considerando apenas as médias como parâmetro, propiciou uma diferença positiva entre os grupos, no sentido de atuar como componente estimulador do sistema de defesa antioxidante. No entanto, estatisticamente não houve diferenças significativas (p>0,05), como mostra a tabela 8 abaixo.

TABELA 8

Valores obtidos dos parâmetros do sistema antioxidante e de lesão muscular.

Grupos/Parâmetros bioquímicos		GSH (unidade)	AU (mg/ml)	CK (U/L)	LDH (unidade)
Média	**Experimental**	69.547	5.360	303.500	163.333
	Controle	61.833	5.356	323.167	158.500
Desvio Padrão	**Experimental**	9.38	2.54	67.38	42.28
	Controle	14.50	1.11	185.96	55.87
Significância (teste "t" de Student)	_____	0,223	0,055*	0,112	0,482

* Resultado próximo do nível de significância adotado, que é de P < 0,05. GSH (glutationa), AU (ácido úrico), CK (creatina quinase), LDH (lactato desidrogenase).

SUREDA et al. 2008, em estudo duplo-cego realizado com corredores amadores, com o objetivo de determinar se a suplementação de vitaminas C e E, durante 30 dias antecedentes a

uma prova de meia maratona (21 km), atenuariam o dano oxidativo em linfócitos induzidos pelo exercício, constataram que a meia maratona aumentou os níveis de malondialdeído linfócitários apenas no grupo placebo ($p < 0,001$). Enquanto que os linfócitos do grupo suplementado acumulou mais vitamina C e vitamina E que o placebo ($p < 0,05$). As atividades enzimáticas após o exercício, da catalase e glutationa peroxidase (enzima integrante do ciclo redox da GSH), aumentou apenas no grupo suplementado. Com isso, concluíram que o exercício físico intenso aumenta a peroxidação lipídica, porém a suplemtação vitaminica tende a combater o dano oxidativo e estímula o sistema antioxidante sem prejudicar as adaptações do organismo ao exercício.

Tendo em vista que SUREDA et al. (2008) utilizaram uma suplementação por 30 dias e que o nosso protocolo foi de uma suplementação aguda (24 horas), talvez incite que seja necessário uma suplementação por mais tempo para que efeitos possam ser observados de forma significativa no sistema antioxidante.

Em outro estudo, porém sem suplementação antioxidante, GROUSSARD et al. 2003, relataram que após a aplicação do teste de Wingate em estudantes universitários do sexo masculino em intensidade supramáxima, apresentaram um aumento na concentração de antioxidantes não enzimáticos (ácido úrico e vitamina C), no entanto uma redução em outros, como foi o caso do β-caroteno, α-tocoferol e GSH.

Nota-se que a possível redução da GSH, por exemplo, pode estar associada à uma de suas ações regenerativas de outros componentes antioxidantes (CRUZAT et al., 2007). Tendo isso em vista, supomos que o nível de GSH reduzido deve-se a sua associação no processo regenerativo de vitamina C e E, podendo-se inferir que se o organismo estivesse suprido dessas vitaminas suficientemente a GSH se encontraria com níveis mais elevados, consequentemente o sistema antioxidante estaria mais bem preparado para eventuais combates ao EO.

Em relação ao ácido úrico, dosado 48 horas após aplicação do protocolo de testes físicos, constata-se também que a suplementação não teve efeito significativo ($p>0,05$). Em estudos com triatletas e dosagem imediatamente após o exercício físico extenuante (meio *Ironman*, caracterizado por 1,9km de natação, 90km de ciclismo e 21km de corrida), SCHNEIDER et al. 2009, observaram aumento significativo de aproximadamente 48% nas concentrações plasmáticas de ácido úrico ($p < 0,001$) em atletas sem suplementação vitamínica. O efeito agudo do exercício pareceu não alterar os parâmetros de dano a lipídeos e proteínas de membrana, assim

como nas atividades das enzimas catalase e glutationa peroxidase. Sendo assim, os autores sugeriram que esse grupo de atletas, após uma competição de longa duração, não sofreram estresse oxidativo, possivelmente devido a liberação de ácido úrico e outros antioxidantes no plasma, decorrentes estes de adaptações do organismo ao exercício físico. Talvez, 48 horas após o exercício, sejam suficiente para que os níveis de ácido úrico plasmáticos elevados sejam levados novamente aos valores basais e por isso não encontramos valores com diferenças significativas entre os grupos.

Outros estudos vão ao encontro da idéia colocada acima, na qual o exercício físico por si só promove um aumento na produção de ácido úrico (BRITES et al., 1996; MASTALOUDIS et al., 2001; GROUSSARD et al 2003). Contrapondo esses resultados ZOPPI et al 2003, em um estudo mais longitudinal em jogadores de futebol, constataram que as concentrações de ácido úrico não demonstraram alterações significativas durante a temporada competitiva de cinco meses, com valores variando em média de 5,0 a 6,0 mg/ml, sendo que o momento das dosagens compreenderam o final de cada mês da temporada.

Porém, vale salientar que a limitação enzimática e não enzimática na atividade antioxidante pode ser acentuada se os fatores exógenos estiverem deficientes no organismo (SIGNORINI e SIGNORINI, 1993). Supõe-se então, que a suplementação com antioxidantes pode ser interessante para evitar os danos por EROs e para retardar a fadiga durante o exercício (WOLINSKY e HICKSON JR., 1996).

Imediatamente após o exercício, a suplementação com vitaminas AO poderia elevar as concentrações plasmáticas de ácido úrico, este fenômeno poderia ser explicado pelo fato de que o ânion urato, forma na qual se encontra este antioxidante no plasma, pode reagir com alguns oxidantes fortes, tais como as hidroxilas, e formar o radical urato que é dissociado posteriormente ao ânion radical urato, este por sua vez pode reagir com ascorbato regenerando o urato, possibilitando que este atue novamente no mecanismo de defesa antioxidante (VASCONCELOS et al., 2007).

Já em relação aos marcadores de lesão muscular observa-se na figura 11 que a média do nível de CK obtida no grupo experimental é menor, em torno de -6,48%, quando comparado ao valor do grupo controle, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p<0,05$). Já ZOPPI et al 2006, utilizando um protocolo de suplementação crônica (90 dias) em jogadores de futebol em estudo duplo-cego com o objetivo de determinar os efeitos de vitaminas antioxidantes

sobre os marcadores do estresse oxidativo, dano muscular e desempenho de jogadores de futebol de elite, os suplementou com vitaminas C (1000mg) e E (800mg), diariamente durante a temporada pré-competitiva. Ao final desse período constataram que as enzimas antioxidantes glutationa redutase, catalase e derivados carbonílicos plasmátios não mostraram variações significativas entre os grupos. Da mesma forma, os marcadores de nível de condicionamento físico não diferiram entre os grupos. Entretanto, o grupo suplementado demonstrou menores níveis de peroxidação lipídica e de lesão muscular ($p < 0,05$), quando comparado ao grupo controle. Assim, os autores concluíram que a suplementação de vitaminas C e E, em jogadores de futebol podem reduzir a peroxidação lipídica e lesão muscular durante os esforços de alta intensidade, mas não melhoram o desempenho físico dos jogadores. As diferenças entre nossos resultados e os de ZOPPI et al (2006) talvez possam ser explicados em parte pelo tempo de suplementação utilizado, 90 dias contra uma suplementação aguda, além da diferença da dosagem, por isso talvez em futebolistas os efeitos da suplementação sejam mais pronunciados quando está é realizada de forma crônica.

NAKHOSTIN et al 2008 observou menor dano muscular em voluntários, saudáveis não treinados submetidos à uma corrida de 30 minutos a 75% do VO_2 máx, sendo estes suplementados com 1000mg de vitamina C. Constataram que os níveis de MDA e CK estavam menores no grupo suplementado, já os níveis de citocinas estavam semelhantes em ambos os grupos, demonstrando que a suplementação de vitamínica diminui a peroxidação lipídica e o dano muscular, porém não induziu efeito sobre marcadores inflamatórios

Ao encontro da idéia acima, em estudo suplementando mulheres durante 14 dias com 1000mg de ácido ascórbico, 268mg de α-tocoferol e 90µg de selênio, e, após a realização de exercícios excêntricos, BLOOMER et al 2004, observou que a atividade de CK e dores musculares foram atenuadas no grupo suplementado com antioxidantes, porém os valores obtidos para força isométrica máxima e amplitude de movimento foram semelhantes entre os grupos. Os resultados sugerem que a suplementação antioxidante foi útil para reduzir as elevações de CK plasmática e dor muscular, porém teve pouco impacto na força isométrica máxima e amplitude de movimento.

Ainda como indicador de dano muscular a LDH (figura 11) dosada não apresentou diferença estaticamente significativa ($p<0,05$) entre os grupos suplementado e placebo. Porém, com suplementação durante 35 dias em jogadores de basquete com 1000mg de ácido ascórbico,

600mg de α-tooferol e 32mg de β-caroteno, Schoder et al 2001, concluíram que a suplementação foi útil na redução dos peróxidos lipídicos, níveis séricos de LDH e na depuração de testosterona. Utilizando um longo período de suplementação com alfa-tocoferol (5 meses), ROKITZKI et al 1994, constataram que houve diminuições significativas de CK e MDA e uma tendência de diminuição da LDH dos 30 ciclistas de alto nível que foram voluntários e realizaram exercícios aeróbios extenuantes durante os cinco meses. Os autores concluíram que a suplementação com alfa-tocoferol teve um efeito protetor contra o estresse oxidativo induzido pelo exercício extenuante.

Desta forma, a literatura veem indicando que a suplementação crônica com nutrientes AO, sobretudo, vitamina C e E, tem potencial efeito protetor no organismo exercitado contra microlesões musculares. Neste estudo, talvez pelo n reduzido, a suplementação aguda não demonstrou diferença estatisticamente significativa nos parâmetros analisados, embora tenha sido observada uma tendência de redução nos marcadores de lesão muscular. Novos estudos com n maiores devem ser conduzidos antes de solidificar a hipótese de que a suplementação alcance efeitos significativos somente em períodos maiores.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um dos desafios na construção deste estudo foi incitar algumas das muitas inquietudes e procurar elucidar um pouco mais as questões inerentes à prática de exercício e treinamento físico, no que diz respeito à suplementação vitamínica antioxidante e estresse oxidativo.

Atualmente, sabe-se que um das dificuldades das metodologias de treinamento físico consiste em realizar estímulos pautados na relação entre esforço físico e período de recuperação, que proporcione ao organismo a aquisição de uma condição funcional favorável para a mobilização de esforços mais elevados com um custo energético menor, além de propiciar um retardamento do aparecimento da fadiga, diminuição das lesões e uma melhora do desempenho físico do indivíduo.

Estudos mostram que a realização de exercício físico extenuante ou de longa duração e/ou realizado por indivíduos destreinados, estão relacionados com danos teciduais conseqüentes do estresse oxidativo induzido pelo aumento de EROs, sendo que esses fatores podem estar envolvidos na redução do desempenho físico, do volume de treinamento e, possivelmente, em overtraining.

Os resultados obtidos no presente estudo referentes ao sistema de defesa antioxidante nos permite inferir que a suplementação de vitaminas C e E, atua de forma sinérgica com os antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Já no tangente a desempenho físico, muitos estudos relatam que não há uma melhora direta do desempenho em indivíduos suplementados com vitaminas antioxidantes, tanto num período agudo como num período crônico.

No tangente aos marcadores de dano muscular, mesmo não alcançando valores estatisticamente significativos, constatamos com os resultados obtidos de CK e LDH uma grande tendência, corroborando com muitos estudos, de que a suplementação vitamínica antioxidante induz a redução desses marcadores de lesão muscular sem prejudicar as adaptações do organismo frente ao exercício.

Por fim ratificamos que a suplementação aqui proposta teve como propósito evitar possíveis desequilíbrios entre a produção de radicais livres e sua neutralização, no sentido de atuar na manutenção da integridade celular e reduzir o tempo de recuperação de lesão muscular decorrente da prática de exercícios físicos. Ou seja, transpondo para a realidade atual na qual é constatada diferenças mínimas de desempenho físico (principalmente no esporte de alto

rendimento) e no qual os calendários esportivos são saturados de competições com períodos curtos de descanso, não permitindo que ocorra uma adaptação positiva do organismo ao treinamento físico, faz-se necessário usufruir de estratégias que permitam a melhor adequação possível do atleta ao sistema inscrito, permitindo a ele dentro das condições impostas o melhor usufruto das potencialidades de seu organismo.

Embora não tenha sido relatado na literatura melhora direta do desempenho físico, a suplementação aqui proposta parece-nos corroborar com o objetivo acima, fazendo-se consistente a melhora de parâmetros antioxidantes e de lesão muscular, podendo-se inferir que há sim uma melhora de desempenho físico, porém de maneira indireta.

8 REFERÊNCIAS

ABERNETHY, P. J.; THAYER, R.; TAYLOR, A. W. **Acute and chronic responses of skeletal muscle to endurance and sprint exercise**. A review. Sports Med, 10(6): 365-89, 1990.

AGUILÓ A., TAULEr P., SUREDA A., CASES N., TUR J., PONS A. **Antioxidant diet supplementation enhances aerobic performance in amateur sportsmen.** Jour Sports Sci., Sep; 25 (11): 1203-10, 2007.

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

ALESSIO, H., GOLDFARB, A., & CAO, G. **Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. / Stress oxydatif d'effort avant et apres un apport complementaire de vitamine C**. International Journal of Sport Nutrition, 7(1), 1-9, 1997.

ANDERSSON, H. et al. **Plasma antioxidant responses and oxidative stress following a soccer game in elite female players**. Scandinavian Journal Of Medicine e Science In Sports, Orebro, p. 600-608. 02 ago. 2010.

ARUOMA, O. I.; HALLIWELL, B. **Molecular biology of free radicals in human diseases**,1st ed, OICA International, London, 1998.

ASTRAND, P. O., RODAHL, K. In: **Textbook of work physiology: Physiological bases of exercise**. McGraw-Hill, New York, 1986.

BECKMAN, J. S., BECKMAN, T. and FREEMAN, B. **Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide**. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 1620-1624, 1990.

BLOOMER, R.; GOLDFARB, A.; MCKENZIE, M.; YOU, T., & NGUYEN, L. **Effects of Antioxidant Therapy in Women Exposed to Eccentric Exercise.** International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism, 14(4), 377-388, 2004.

BOVERIS, A.; OSHINO, N.; CHANCE, B. **The cellular production of hydrogen peroxide**. Biochem. J. 128, 617-630, 1972.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; LIMONGELLI, F. M. **Creatine kinase monitoring in sport medicine**. Br Med Bull. 81:209-30. 2007

BRITES, F. D.; EVELON, P. A.; CHRISTIANSEN, M. G.; NICOL, M. F.; BASILICO, M. J.; WIKINSKI, R. W.; LLESUY, S. F. **Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status**. Clin. Sci. 4: 381-385, 1996.

CATLING, D.C., GLEIN, C.R., ZAHNLE, K.J., MCKAY, C.P. **Why O_2 is required by complex life on habitable planets and the concept of planetary "oxygenation time".** Astrobiology, 5(3):415-38, 2005.

COOPER, K. H. **O programa aeróbico para o bem estar total**. Rio de Janeiro: Nórdica, 1982.

CRUZAT, V. F., ROGERO, M. M., BORGES, M. C., TIRAPEGUI, J. **Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação**. Rev Bras Med Esporte, vol. 13, Nº 5 – Set /Out, 2007.

DAVIES, K. J. **An overview of oxidative stress**. IUBMB - Life, 50(4-5): 241-4, 2000.

EVANS, W. J. Vitamin E, vitamin C, and exercise. Am J Clin Nutr., 72(2 Suppl):647-52, 2000.

FINAUD, J., LAC, G., FILAIRE, E. **Oxidative stress. Relationship with exercise and training**. Sports Med., 36(4):327-58, 2006.

GARCIA, M. **Evaluación Del entrenamiento tradicional Del caballo criollo chileno de rodeo mendiante al análisis de variables fisiológicas y bioquímicas sanguínea**. Arquivos de Medicina veterinaria, Belo Horizonte,v.32, n.2, p.171-183, 2000.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. **Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data.** *Free Radic Biol Med,* 29:1106-14, 2000.

GROUSSARD C.; MACHEFER G.; RANNOU F.; FAURE H.; ZOUHAL H.; SERGENT O. et al. **A. Physical fitness and plasma non-enzymatic antioxidant status at rest and after a Wingate test**. Can J Appl Physiol, 28:79-92, 2003.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, M.C. **Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview**. Meth. Enzym., 186: 1-4, 1990.

HALLIWELL, B. **Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?** J Neurochem. 97(6):1634-58, 2006a.

HALLIWELL, B. **Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life**. Plant Physiol. 141(2):312-22, 2006b.

HALLIWELL B., GUTTERDGE M. C**. The chemistry of free radicals and, related 'reactive species'. In: Free radicals in biology and medicine**. 3rd ed. Oxford: Clarenton Press; p.36-104, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, 3, Oxford Science Publications, 1998.

HELLSTEN, Y., APPLE, F. S., SJODIN, B. **Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle**. J Appl Physiol, 81:1484, 1996.

HELLSTEN, Y. et al. **Oxidation of urate in human skeletal muscle during exercise**. Free Radical Biol. Med., 22(1-2), p. 169-174, 1997.

HOOPER, D. C.; SCOTT, G. S.; ZBOREK, A.; A=MIKHEEVA, T.; KEAN, R. B.; KOPROWSKI, H.; et al. **Uric acid, a peroxynitrite scavenger, inhibits CNS inflammation, blood-CNS barrier permeability changes and tissue damage in a mouse model of multiple sclerosis**. FABESP J, 14(5), 691-698, 2000.

JACKSON MJ. **Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptations to exercise**. Philos Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci., 360(1464):2285-91, 2005.

JENKINS, R. R. **Free radical chemistry relationship to exercise**. Sports Med, 5: 156-70, 1988.

JENKINS, R. R., GOLDFARB, A. **Introduction: oxidant stress, aging and exercise**. Med. Sci. Sports Exerc. 25, 210-212, 1993.

JI L. L., FU R. **Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide**. J Appl Physiol. 72:549-54, 1992.

JI, L. L. **Increasing healthy life span: conventional measures and slowing the innate aging process**. Ann. N. Y. Acad. Sci. 959: 82-92, 2002.

JOHNSON, B. L. E NELSON, J. K. **Pratical Measurements for Evaluation in Physical Education**. Minessota: Burgess Publishing Company, p. 470, 1979. Apud: MARINS, J. C. B. e GIANNICHI R. S. Avaliação e prescrição de atividade física: guia prático. 3ed., RJ: Shape, p.155, 2003.

KATCH, Frank; MCARDLE, William D. **Nutrição, controle de peso e exercício**. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1984.

KOSENKO, E. A.; KAMINSKY, Y. G.; STAVROSKAYA, I. G.; T. V.; KONDRASHOVA, M. N. **The stimulatory effect of negative air ions and hydrogen peroxide on the activity of superoxide dismutase**. FEBS Lett. 410: 309-312, 1997.

KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical enzymology. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, cap.12, p.303-325, 1997.

LIU, J. et al. **Chronically and acutely acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants**. Journal of Applied Physiology, v. 89, p. 21-28, 2000.

MARINS, João C. Bouzas; GIANNICHI, Ronaldo S. **Avaliação e Prescrição de Atividade Física: guia prático**. 3. ed. Rio de Janeiro: Shape, 341 p., 2003.

MASTALOUDIS, A. et al. **Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise**. Free Radical Biol Med, 31(7), p. 911-922, 2001.

MCARDLE, W. D., KATCH, F. I., KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia nutrição e desempenho humano.** 6ed., Guanabara, SP, 2008.

MOLNAR, A. M. **Alterações mitocondriais e estresse oxidativo muscular induzidos por um treinamento físico: influência do exercício excêntrico e da suplementação de ácidos graxos, Omega-3**. Tese de doutorado, IB-UNICAMP, 2005.

MORROW, James R. et al. **Medida e avaliação do desempenho humano**. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2003.

NAKHOSTIN-ROOHI, B., BABAEI, P., RAHMANI-NIA, F., & BOHLOOLI, S. **Effect of vitamin C supplementation on lipid peroxidation, muscle damage and inflammation after 30-min exercise at 75% VO^sub 2max^**. Journal of Sports Medicine and Physical Fitness, 48(2), 217-24, 2008.

NETO. J. M. F. A. **Estudo da Relação Entre Estresse Oxidativo e Síntese de Proteínas de Estresse "HSP70" no Sangue de Animais Submetidos a Diferentes Níveis de Exercício Físico**. Tese de doutotado, IB – Uicamp, 2003.

NIEMAN, David C. **Fitness and sports medicine: a health-related approach**. 3. ed. Mayfield: Mountain View, 1995.

NIEMAN, D. C.; DRU, A. H.; LUCILLE, L. S.; ALAN, C. U.; DEBRA, M. V.; . DAVIS, J. M.; KAMINSKY, D. E.; SHUTE, M. **Cytokine changes after a marathon race**. J Appl Physiol 91: 109–114, 2001.

NOSAKA, K., NEWTON, M., SACCO, P. **Delayed-onset muscle soreness does not reflect the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage**. Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports, 12, p.337–346, 2002.

OLIVEIRA, K. J. F., KOURY, J. C., DONANGELO, C. M. **Micronutrientes e capacidade antioxidante em adolescentes sedentários e corredores**. Rev. Nutr., Campinas, 20(2):171-179, mar./abr., 2007.

OLSZEWER, EFRAIN e NAVEIRA, MIGUEL. **Radicais livres em Medicina Esportiva**. Editora tecnopress, SP, 1 ed.,1997.

PALAZZETTI S, RICHARD M-J, FAVIER A, MARGARITIS I. **Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage**. Can J Appl Physiol. 28:588-604, 2003.

PALMER, F. M.; et al. **Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following na ultramarathon**. Eur J Appl Physiol., 89(1), p.100-107, 2003.

PAULA, Fernanda Borges de Araújo.**Atividade do extrato de frutos de pterodon emarginatus (sucupira branca) contra o estresse oxidativo e nitrosativo induzido por exercício agudo em ratos**. 2004. 100 f. Tese (Doutora) - Curso de Biologia, Unicamp, Campinas, 2004.

PENNA, S.P. **Níveis de glutationa reduzida e atividade da catalase, superóxido dismutase e glicose-6-fosfato desidrogenase em indivíduos expostos ao vapor de mercúrio**. Campinas, 1995. Dissertação (Mestre em Clínica Médica) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.

POLIDORI, M. C, CHERUBINI, A., SENIN, U., MECOCCI, P. **Peripheral non-enzimatic antioxidant changes with human aging: a selective status report**. Biogerontology 2: 99‑104, 2001.

POLLOCK, Michel L.; WILMORE, Jack H. **Exercícios na saúde e na doença**. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 718 p., 1993.

POPOV, T. Cuardernos de Atletismo – **Entrenamiento de Alto Nível: Carreras**. Real Federación Española de Atletismo. (19), 1986.

POWERS, S.K., JI, L.L. and LEEUWENBURGH, C. **Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review**. Med. Sci. Sports Exerc. 31: 987-997, 1999.

POWERS, S. K., DERUISSEAU, K. C., QUINDRY, J., HAMILTON, K.L. **Dietary antioxidants and exercise**. J Sports Sci, 22(1):81-94, 2004.

POWERS, S. K.; LENNON, S. L. **Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle**. Proc Nutr Soc, v.58 (n.4), p.1025-1033, 1999.

PRYOR, W.A., HOUK, K.N., FOOTE, C.S., FUKUTO, J.M., IGNARRO, L.J., SQUADRITO, G.L., et al. **Free radical biology and medicine: it's a gas, man!** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 291(3):R491-511, 2006.

RADÁK, Z., KANEKO, T., 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 the rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes**. Free Rad. Biol. Med. 27: 69-74, 1999.

REID, M. B. **Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle invited review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't**. Journal of Applied Physiology, v. 90, p. 724-731, 2001.

ROCHA, P. S. O. e CALDAS, P. R. L. Treinamento Desportivo. Ministério da Educação e Cultura, Departamento de Documentação e Divulgação, 1978. Apud: MARINS, João C. Bouzas; GIANNICHI, Ronaldo S.. **Avaliação e Prescrição de Atividade Física: guia prático**. 3. ed. Rio de Janeiro: Shape, 341 p, 2003.

ROKITZKI, L.; LOGEMANN, E.; HUBER, G.; KECK, E.; KEUL, J. **Alpha-tocopherol supplementation in racing cyclists during extreme endurance training**. Int. J. Sport Nutr. 4:253-64, 1994.

SACHECK ,J. M.; BLUMBERG, J. B. **Role of vitamin and oxidative stress in exercise**. Nutrition, v. 17, p. 809-814, 2001.

SCHNEIDER, C. D. e OLIVEIRA, A. R. **Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico**. Rev Bras Med Esporte. Vol. 10, Nº 4 – Jul/Ago, 2004.

SCHNEIDER, C. D. et al. **Efeito do Exercicio de Ultrarresistencia Sobre Parâmetros de Estresse Oxidativo**. Rev Bras Med Esporte – Vol. 15, No 2 – Mar/Abr, 2009.

SCHRÖDER, H., NAVARRO, E., MORA, J., GALIANO, D., & TRAMULLAS, A. **Effects of α-tocopherol, β-carotene and ascorbic acid on oxidative, hormonal and enzymatic exercise stress markers in habitual training activity of professional basketball players**. European Journal of Nutrition, 40(4), 178, 2001.

SHAMI, N.J.I.E. e MOREIRA, E.A.M. **Licopeno como agente antioxidante**. Nutr., 17: 227-36, 2004.

SIGNORINI, J. L. e SIGNORINI, S. L. **Atividade Física e Radicais Livres: Aspectos biológicos, químicos, fisiopatológicos e preventivos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo - Ícone, 1993.

SIMMONS, R.A. **Developmental origins of diabetes: the role of oxidative stress**. Free Radic Biol Med, 40(6):917-22, 2006.

SMOLKA, M. B.; ZOPPI, C. C.; ALVES, A. A.; SILVEIRA, L. R.; MARANGONI, S.; PEREIRA, S. I.; NOVELLO, J. C.; MACEDO, D. V.: Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 279, R1539, 2000.

SOUSA, Maria do Socorro Cirilo de.**Teste de banco com carga contínua para análise do volume de oxigênio (VO2) predito e analisado por tempo de esforço em pessoas treinadas (TRD), ativas (ATV), e destreinadas (DTR) a partir dos 13 anos: proposta de validação**. 2001. 328 f. Tese (Doutorado) - Curso de Educação Física, Unicamp, Campinas, 2001.

STRYER, L. **Bioquímica**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

SUREDA, A.; TAULER, P.; AGUILÓ, A.; CASES, N.; LLOMPART, I.; TUR, J. A.; PONS, A. **Influence of an Antioxidant Vitamin-Enriched Drink on Pre- and Post-Exercise Lymphocyte Antioxidant System**. Ann Nutr Metab, 52:233-240, 2008.

TAULER, P., AGUILÓ, A., FUENTESPINA, E., TUR, J. A., PONS, A. **Diet supplementation with vitamin E, vitamin C and β-carotene cocktail enhances basal neutrophil antioxidant enzymes in athletes**. Pflügers Archiv – Eur. J.l of Physio. Volume 443, issue 5-6 (March), p. 791 – 797, 2002.

TURRENS , J. F. **Mitochondrial formation of reactive oxygen species**. J. Physiol.552, 335-344, 2003.

UCHIDA, M. C.; NOSAKA, K.; UGRINOWITSCH, C.; YAMASHITA, A.; MARTINS J. R.; MORISCOT, A. S.; AOKI, M. S. **Effect of bench press exercise intensity on muscle soreness and inflammatory mediators**. Journal of Sports Sciences, 27:5,499- 507, 2009

URSO, M. L; CLARKSON, P. M. **Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation**. Toxicology, v. 189, p. 41-54, 2003.

VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN NTD, MAZUR M, TELSER J. **Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease**. Int J Biochem Cell Biol. 39(1):44-84, 2007.

VALKO, M., RHODES, C.J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., MAZUR, M. **Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer**. Chem Biol Interact, 160(1):1-40, 2006.

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima et al. **Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação**. Química Nova, São Paulo, v. 30, n. 5, p.1323-1338, 02 jul. 2007.

VINA J, et al. **Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants**. IUBMB Life, 50(4-5):271-7, 2000.

VINCENT H. K., et al. **Exercise training protects against contraction-induced lipid peroxidation in the diaphragm**. Eur J Appl Physiol, 79:268, 1999.

VINSON, J.A. **Oxidative stress in cataracts**. Pathophysiology, 13(3):151-62, 2006.

VIVACQUA, R.; HESPANHA, R. **Ergonometria e reabilitação em cardiologia**. Rio de Janeiro: Medsi, 1992.

VOET, D., VOET, G.J., PRATT, C.W. **Fundamentos de Bioquímica**. 1.ed., Porto Alegre: Artes Médicas, 2000.

WOLINSKY, I. e HICKSON JR., J. F. **Nutrição no Exercício e no Esporte**. 2ed. São Paulo: Roca, 1996.

YU, B. P., CHUNG, H. Y. **Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging**. Mech Ageing Dev, 127(5):436-43, 2006.

ZOPPI, C. C. et al. **Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva**. Rev. paul. Educ. Fís., São Paulo, 17(2): 119-30, jul./dez. 2003.

ZOPPI, C. C., HOHL, R., SILVA, F. C., LAZARIM, F. L., NETO, J. M. F. A., STANCANNELI, M., MACEDO, D, V. V**itamin C and E Supplementation Effects in Professional Soccer Players Under Regular Training**, J. Int Soc Sports Nutr. 3(2): 37–44, 2006.

ZWART, L. L. et al. **Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans**. Free Radical Biology & Medicine, v. 26, n. 1/2, p. 202-226, 1999.

ANEXOS

ANEXO 1: PAR-Q.

"PAR-Q"

(Questionário de prontidão para a Atividade Física)

Por favor, leia cuidadosamente as questões a seguir, honestamente assinalando sim ou não!

Sim	Não	
☐	☐	1 – Seu médico já lhe disseque você é portador de uma afecção cardíaca e que somente deve realizar a atividade física recomendada por um médico?
☐	☐	2 – Você sente dor no tórax quando realiza uma atividade física?
☐	☐	3 – No último mês, você teve dor torácica quando não estava realizando uma atividade física?
☐	☐	4 – Você perdeu o equilíbrio em virtude de uma tontura ou já perdeu a consciência?
☐	☐	5 – Você sofre de algum problema ósseo ou articular que poderia ser agravado por uma mudança em sua atividade física?
☐	☐	6 – Seu médico está lhe receitando atualmente medicamentos para pressão arterial ou alguma condição cardíaca?
☐	☐	7 – Você está a par de alguma outra razão pela qual não deveria realizar uma atividade física?

- Se você respondeu sim, para uma ou mais questões: **consulte seu médico** ANTES de iniciar seu programa de exercício físico ou ANTES de realizar testes físicos, informando as questões que você assinalou SIM.
- Se você respondeu não: está razoavelmente seguro de que pode iniciar um programa de exercícios físicos ou de aptidão física de maneira orientada e supervisionada por profissional capacitado.

"Eu li, entendi e respondi este questionário. Qualquer dúvida que tive foi completamente solucionada."

Nome:..... Idade:..... anos; Data.../.../...

Assinatura:.....

Fonte: adaptado por Jamison de Melo Valiéro do CANADIAN SOCIETY FOR EXERCISE PHYSIOLOGY (CSEP). The canadian physical activity, fitness & lifestyle approach. Ottawa: 2004.

ANEXO 2: Parecer do Cômite de Ética.

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 13/10/10
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 776/2010 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto).
CAAE: 0606.0.146.000-10

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: **"EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES (C E E) EM PARÂMETROS SANGUÍNEOS APÓS EXERCÍCIO FÍSICO".**
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Pablo Christiano Barbosa Lollo
INSTITUIÇÃO: Faculdade de Educação Física/UNICAMP
APRESENTAÇÃO AO CEP: 11/08/2010
APRESENTAR RELATÓRIO EM: 13/10/11 (O formulário encontra-se no site acima).

II - OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da suplementação de vitaminas antioxidantes (Ce E) nos parâmetros sanguíneos de lesão muscular e de defesa antioxidante após exercício físico (catalase, glutationa, ácido úrico, superoxido desmutase, creatina quinase, lactato desidrogenase).

III - SUMÁRIO

Trata-se de um projeto de conclusão de curso da graduação, um estudo duplo-cego, onde serão avaliados 25 voluntários, estudantes universitários saudáveis entre 18 e 30 anos, do sexo masculino, participantes da equipe de futebol de campo da Liga das Atléticas da Unicamp (LAU), que treinem 2x/semana, não tabagistas e não etilistas. Serão divididos em 2 grupos: experimental, que receberá uma suplementação de 500 mg de vitamina C e 150 mg de vitamina E (alfa-tocoferol), 24h antes dos testes físicos e a mesma dose imediatamente antes e o grupo controle, que receberá placebo. Será feita a coleta de exames laboratoriais dos 2 grupos. Critérios de exclusão: idade < 18 ou > 30 anos, falta ao treino, tabagismo, etilismo, antecedente de HAS, DM, dislipidemia, doença renal, hepática, doenças de depósito, doenças crônicas degenerativas. Serão coletados 20ml de sangue periférico para as análises. Os testes físicos utilizados serão: teste de Cooper (corrida de 12 minutos), teste de 40 segundos e teste de 50 metros. Será feito comparação entre as análises sangüíneas através do teste t de student.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Após respostas às pendências, o projeto encontra-se adequadamente redigido e de acordo com a Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

V - PARECER DO CEP

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII- DATA DA REUNIÃO

Homologado na VIII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 24 de agosto de 2010.

Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

APÊNDICES

APÊNDICE 1: Termo de Compromisso Livre e Esclarecido.

“Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”

Efeito da suplementação de vitaminas antioxidantes (C e E) em parâmetros sanguíneos após exercício físico.

Eu,_____, portador do documento RG:_____, residente à R:_____; bairro_____; cidade:_____; telefone de contato:_____. Fui convidado pelos pesquisadores responsáveis: Profº Ms. Pablo Christiano Barboza Lollo e/ou Profª Dra. Mara Patrícia Traina Chacon-Mikahil e/ou Jamison de Melo Valiéro, a participar de um estudo do tipo duplo-cego e randomizado com o uso de suplementação vitamínica (C e E) frente à alguns parâmetros sanguíneos após exercício físico. Fui informado de que essa suplementação têm características antioxidantes e que tende a combater efeitos deletérios ao nosso organismo oriundo da produção de radicais livres de oxigênio decorrente da prática de exercício físico. E, acredita-se que a suplementação vitamínica proposta auxiliará o sistema de defesa antioxidante de forma preventiva na manutenção da integridade das membranas celulares, reduzindo os marcadores de dano muscular e melhorando os marcadores do sistema antioxidante.
Para tal, serei suplementado 24 horas antes da realização de testes físicos com a metade da dose total e a outra metade antes de iniciar os testes. Após a realização destes, serei submetido à coleta de sangue para a dosagem de biomarcadores sanguíneos.
Fui informado também que as informações a meu respeito só serão divulgadas ao final da pesquisa e de modo a manter o meu nome em sigilo, e que esses dados só serão utilizados caso eu permaneça no estudo pelo tempo necessário. Fui informado e estou ciente de que posso desistir de participar do estudo em qualquer época sem que haja qualquer penalidade, e, caso isso aconteça os meus dados e os dados referentes a mim não serão utilizados pelos pesquisadores. Além disso, estou ciente de que não serei remunerado e não arcarei com as despesas decorrentes

desta pesquisa. Concordo também, que os riscos envolvidos nesta pesquisa são mínimos, sendo que os possíveis benefícios se sobrepõem àqueles.

Aceito participar do estudo e concordo com as informações prestadas acima; Estou ciente de tudo que será feito e sei que caso tenha qualquer dúvida posso entrar em contato com a Profª Dra. Mara Patrícia Traina Chacon-Mikahill, professora associada da Faculdade de Educação Física da Unicamp, ou pelo telefone: (19) 35216608, ou ainda pelo email: marapatricia@fef.unicamp.br; posso também entrar em contato com Pablo Christiano Barboza Lollo, ou pelo telefone: (19) 35214067, ou ainda pelo email: pablo@fea.unicamp.br; e também posso entrar em contato com Jamison de Melo Valiéro, ou pelo telefone (19) 21216010, ou ainda pelo email: j061621@dac.unicamp.br.

Se tiver reclamações a respeito dos procedimentos realizados poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética e Pesquisa da FCM da Unicamp através do telefone 19.3521-8936 e 19.3521-7187 (fax) ou no endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 – Caixa Postal 6111 CEP 13083-887 – Campinas, SP ou ainda pelo email: cep@fcm.unicamp.br.

Campinas, ____ de _____ de 20___.

Assinatura do voluntário:

_____.

Nome e assinatura do pesquisador:

_____		_____		_____
Pablo C. B. Lollo	e/ou	Jamison M. Valiéro	e/ou	Mara P. T. C. Mikahill

APÊNDICE 2: Teste T de *Student*.

T-TEST

T-TEST GROUPS=GRUPOS(1 2) /MISSING=ANALYSIS /VARIABLES=GSH CK AC.ÚRICO LDH COOPER FCBANCO SALTOHORZ ABDOMINAL ARRM TREACAO TTOTAL FLEXAO AGILIDADE /CRITERIA=CI (.95).

Notes

Input	Output Created	14-Out-2010 20h12min51s
	Comments	
	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	12
Missing Value Handling	Definition of Missing	User defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on the cases with no missing or out-of-range data for any variable in the analysis.
	Syntax	T-TEST GROUPS=grupos(1 2) /MISSING=ANALYSIS /VARIABLES=GSH CK ACURICO LDH COOPER FCBANCO SALTOHORZ ABDOMINAL ARRM TREACAO TTOTAL FLEXAO AGILIDADE /CRITERIA=CI(.95).
Resources	Processor Time	0:00:00.047
	Elapsed Time	0:00:00.101

[DataSet0]

GROUP STATISTICS

	grupos	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
GSH	1,00	6	69,5467	9,37582	3,82766
	2,00	6	61,8333	14,50278	5,92074
CK	1,00	6	303,5000	67,38472	27,50970
	2,00	6	323,1667	185,95851	75,91724
AC. ÚRICO	1,00	6	5,3600	1,10551	,45132
	2,00	6	5,3550	2,53679	1,03564
LDH	1,00	6	163,3333	42,27844	17,26010
	2,00	6	158,5000	55,87397	22,81045
COOPER	1,00	6	753,1667	149,93254	61,20970
	2,00	5	758,4000	36,61694	16,37559
FCBANCO	1,00	6	141,1667	13,34791	5,44926
	2,00	6	142,6667	13,82269	5,64309
SALTOHORZ	1,00	6	2,2067	,18173	,07419
	2,00	6	2,1017	,28604	,11677
ABDOMINAL	1,00	6	43,1667	9,23941	3,77197
	2,00	6	41,1667	4,95648	2,02347
ARR.MED.	1,00	6	414,8883	56,18351	22,93682
	2,00	6	422,6117	33,22144	13,56260
T. REAÇÃO	1,00	6	,4767	,06501	,02654
	2,00	6	,5183	,06401	,02613
T. TOTAL	1,00	6	4,9483	,13600	,05552
	2,00	6	5,0117	,29034	,11853
FLEXÃO	1,00	6	35,5000	8,68907	3,54730
	2,00	6	29,5000	11,65762	4,75920
AGILIDADE	1,00	6	11,4167	,35251	,14391
	2,00	6	12,0633	,76552	,31252

INDEPENDENT SAMPLES TEST

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	**Sig.**	**t**	**df**
GSH	Equal variances assumed	1,688	,223	1,094	10
	Equal variances not assumed			1,094	8,558
CK	Equal variances assumed	3,044	,112	-,244	10
	Equal variances not assumed			-,244	6,291
AC. ÚRICO	Equal variances assumed	4,705	**,055***	-,004	10
	Equal variances not assumed			-,004	6,833
LDH	Equal variances assumed	,532	,482	,169	10
	Equal variances not assumed			,169	9,312
COOPER	Equal variances assumed	2,778	,130	-,076	9
	Equal variances not assumed			-,083	5,705
FCBANCO	Equal variances assumed	,096	,763	-,191	10
	Equal variances not assumed			-,191	9,988
SALTOHORZ	Equal variances assumed	2,247	,165	,759	10
	Equal variances not assumed			,759	8,471
ABDOMINAL	Equal variances assumed	5,004	**,049***	,467	10
	Equal variances not assumed			,467	7,658
ARR.MED.	Equal variances assumed	,307	,592	-,290	10
	Equal variances not assumed			-,290	8,116
T. REAÇÃO	Equal variances assumed	,099	,760	-1,119	10
	Equal variances not assumed			-1,119	9,998
	Equal variances assumed	2,655	,134	-,484	10

T. TOTAL	Equal variances not assumed			-,484	7,093
FLEXÃO	Equal variances assumed	,983	,345	1,011	10
	Equal variances not assumed			1,011	9,245
AGILIDADE	Equal variances assumed	2,129	,175	-1,879	10
	Equal variances not assumed			-1,879	7,029