

**ALTERAÇÕES EM BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO,
DEFESA ANTIOXIDANTE E LESÃO MUSCULAR EM JOGADORES DE FUTEBOL
DURANTE UMA TEMPORADA COMPETITIVA**

Cláudio César ZOPPI*
Joaquim ANTUNES-NETO*
Fernando Oliveira CATANHO*
Luiz Fernando GOULART*
Nilcéia MOTTA E MOURA*
Denise Vaz de MACEDO*

RESUMO

O exercício físico induz aumento no consumo de oxigênio bem como na demanda energética. O aumento no consumo de O₂ induz aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Dependendo da sua concentração, as EROs reagem com estruturas celulares, oxidando-as. Altos níveis de oxidação alteram sua função e prejudicam a homeostase intracelular. Jogadores de futebol aumentaram o desempenho de forma significativa nas últimas décadas, pela intensificação do processo de treinamento e melhoria das capacidades físicas envolvidas na modalidade. Tal fato sugere um aumento na possibilidade destes atletas estarem mais susceptíveis ao ataque oxidativo de EROs, com conseqüente aumento nos níveis de estresse oxidativo. Por outro lado, o treinamento também age na modulação dos sistemas antioxidantes intracelulares, aumentando sua capacidade de remover EROs. O objetivo deste estudo foi analisar o comportamento de marcadores sanguíneos do sistema de defesa antioxidante, de ataque oxidativo, bem como dos níveis de alteração muscular ao longo de cinco meses de campeonato paulista de um time de futebol, categoria sub-20. Nossos resultados mostram que as enzimas antioxidantes glutathione redutase e catalase atingiram picos de atividade em momentos distintos da temporada, sugerindo uma ação complementar entre elas. Os marcadores de estresse oxidativo e lesão muscular analisados não mostraram alterações significativas ao longo do estudo. Esses dados sugerem que a capacidade de defesa antioxidante foi eficiente em tamponar o possível aumento na produção de EROs induzido pelos treinamentos e jogos da competição, impedindo a ocorrência de lesões musculares de origem oxidativa ao longo do campeonato.

UNITERMOS: Treinamento; Ácido úrico; Grupamento SH; Creatina quinase; Estresse oxidativo.

INTRODUÇÃO

O exercício físico induz aumento de até 20 vezes no volume de oxigênio total consumido ($\dot{V}O_2$) (Astrand & Rodahl, 1986). Assumindo que cerca de 2 a 5% do O₂ consumido dá origem a espécies reativas de oxigênio (EROs), esse aumento no consumo de oxigênio induzido pelo exercício físico está associado a um aumento na produção de tais espécies (Jenkins & Goldfarb,

1993). A alta produção de EROs é responsável por várias ações deletérias, tais como aumento nos níveis de peroxidação de lipídios de membranas (Alessio, 1993), aumento na carbonilação de proteínas e até danos ao DNA intracelular (Radak, Kaneko, Tahara, Nakamoto, Pucso, Sasvari, Nyakas & Goto, 1999), o que em última instância altera e prejudica o metabolismo intracelular,

Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

podendo inclusive ocasionar morte celular (Halliwell & Gutteridge, 1989). Vários estudos correlacionaram o aumento na produção de EROs com a instalação do processo de fadiga muscular (Barclay & Hansel, 1990; Brotto & Nosek, 1996) e até mesmo com o processo de lesão muscular (Frankiewicz-Jozko, Faff & Sieradzan-Gabelska, 1996).

Obviamente, o organismo possui vários sistemas de defesa antioxidante que atuam na detoxificação das espécies reativas de oxigênio de formas diferenciadas. Dentre eles, o sistema enzimático antioxidante parece ser o principal meio de remoção de EROs formadas durante o metabolismo intracelular (Yu, 1994). As enzimas antioxidantes, por sua vez, parecem possuir a capacidade de se adequar ao aumento na produção de EROs, através do aumento na sua atividade. Nesse sentido, vários estudos mostraram aumento na atividade das enzimas antioxidantes induzidas pelo treinamento físico em músculo e sangue (Powers, Ji & Leeuwenburgh, 1999; Smolka, Zoppi, Alves, Silveira, Marangoni, Pereira-da-Silva, Novello & Macedo, 2000), sendo a atividade destas enzimas modulada justamente pela concentração de EROs (Ji, 2002; Ji, Dillon & Wu, 1990).

O desempenho de jogadores de futebol vem sendo melhorado nas últimas décadas. A distância percorrida em média durante uma partida aumentou em mais de 50%, comparada com o que se observava na década de 70 (Bangsbo, 1994). Esta melhora se deu, provavelmente, pelo desenvolvimento e intensificação das cargas de treinamento físico aplicado aos atletas de futebol ao longo destes anos. A intensidade do treinamento físico está diretamente relacionada com os níveis de produção de EROs (Alessio, Goldfarb & Cutler, 1988) e também com a adaptação das enzimas antioxidantes (Powers, Criswell, Lawler, Ji, Martin, Herb & Dudley, 1994; Smolka et alii, 2000). Desta forma, níveis eficientes de defesa antioxidante e conseqüentemente baixos níveis de estresse oxidativo são desejados como resposta adaptativa a um treinamento eficiente, o que evitaria ao máximo a instalação de processos de fadiga. Essa resposta poderia manter os níveis de desempenho pouco alterados, bem como evitar o aparecimento de lesões musculares ocasionadas por este tipo de estresse ao longo da temporada competitiva.

Nosso objetivo, neste estudo, foi verificar o comportamento de biomarcadores de ataque oxidativo, lesão muscular e a atividade das

enzimas antioxidantes glutatona redutase e catalase em jogadores de futebol durante toda a fase competitiva do campeonato paulista de futebol da categoria sub-20 (Junior). Escolhemos essas enzimas por termos resultados prévios mostrando sua modulação por diferentes protocolos de treinamento em ratos (Smolka et alii, 2000).

MATERIAIS E MÉTODOS

Sujeitos da pesquisa

Participaram deste estudo 21 atletas de futebol da Associação Atlética Ponte Preta, Categoria Sub-20 com 18 ± 1 anos de idade. Este trabalho contou com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos da Faculdade de Odontologia da UNICAMP, sendo que todos os sujeitos foram informados dos procedimentos utilizados no estudo e deram seu consentimento por escrito.

Perfil das atividades executadas pelos atletas durante a fase competitiva

Durante o período competitivo, os atletas treinavam quatro dias da semana, executando atividades táticas, técnicas e físicas. A intensidade dos treinos não era superior a 60% da máxima e o volume de treino diário não era superior a 120 minutos, configurando, portanto, atividades de média intensidade, visando exclusivamente a manutenção da forma adquirida no período preparatório. Os jogadores tinham apenas uma atividade de alta intensidade semanal que se tratava do jogo da competição. Os atletas que não participavam dos jogos faziam uma sessão de treino semanal com intensidade e duração similares às do jogo.

Protocolo das coletas do sangue e preparo das amostras

A coleta do sangue foi realizada no Laboratório de Bioquímica do Exercício (Labex), no Instituto de Biologia da UNICAMP, sob responsabilidade de farmacêutica credenciada, seguindo todos os cuidados de higiene e assepsia. Mensalmente, foram coletados 5 ml de sangue, a partir do término do período preparatório e conseqüente início do campeonato (coleta 1) até o momento em que o time foi eliminado da competição nas semi-finais (coleta 5). As amostras

foram coletadas sempre 48 horas após o término do jogo semanal ou da sessão de treinamento mais intensa, mimetizando o jogo aos sujeitos que não participaram do mesmo.

O sangue foi coletado diretamente em tubo heparinizado e em seguida, centrifugado por 15 minutos, a 3000 x g para separação do plasma e células sangüíneas. O plasma foi armazenado a -70 °C em tubos tipo "eppendorf" para posterior análise da concentração de grupamentos sulfidríla totais, ácido úrico e atividade da enzima creatina quinase.

As hemácias foram lavadas com solução gelada de Tampão Fosfato 0,1 M com NaCl 0,9%, pH 7,4 e centrifugadas a 700 x g, desprezando-se, em seguida, o sobrenadante. Esse processo foi repetido três vezes. Alíquotas de 500 µl foram retiradas e hemolisadas com água deionizada na proporção 1:1 (v/v) (Andersen, Nielsen, Nielsen & Grandjean, 1997), com posterior armazenamento a -70 °C para as análises da atividade das enzimas catalase e glutatona redutase.

Análise da atividade da creatina quinase (CK) no plasma

As análises foram feitas utilizando-se o kit "MPR3 CK NAC-ativado" (Boehringer Mannheim). Juntou-se à solução tampão (frasco de 2,5 ml) um reativo específico, deixando-os em banho-maria a 37 °C por um minuto. Em seguida, adicionou-se 50 µl de plasma à solução reativa, deixando novamente a mistura em banho-maria a 37 °C por mais um minuto. De forma imediata, realizou-se quatro leituras das absorbâncias de uma mesma amostra a 334 nm, com um minuto de intervalo entre uma leitura e outra, para que fosse obtido um valor Δ. O cálculo da atividade de CK (U/L) na amostra foi feito pela equação $CK_p = 8252 \times \Delta$ absorbância/minuto.

Grupamentos sulfidríla (GS) totais em plasma

Uma alíquota de 50 µl do plasma foi misturada em 1 ml de tampão Tris-EDTA (1 mM), sendo feita uma primeira leitura a 412 (leitura A_1). Após essa leitura foi adicionado 20 µl de 5,5'-ditiobis ácido 2-nitrobenzóico (DTNB) 10 mM, diluído em metanol. Esperou-se 15 minutos à temperatura ambiente e fez-se nova leitura (leitura A_2). O branco (B) continha somente DTNB e tampão Tris-EDTA. Os grupamentos sulfidríla

totais foram calculados conforme mostrado abaixo, usando-se o coeficiente de absorção molar = $13,600 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ (Faure & Lafond, 1995).

$$(A_2 - A_1 - B) \times 1,57 \text{ mM}$$

Ácido úrico

As análises para determinação da concentração de ácido úrico no plasma foram conduzidas de acordo com Town, Gehm e Hammer (1985), através de kit específico Roche.

Glutaciona redutase (GR)

Os ensaios foram conduzidos de acordo com Smith, Vierheller e Thorne (1988). As amostras (3 µl de hemolisado diluído 1:20) foram adicionadas a um meio de incubação contendo KH_2PO_4 0.2 M, EDTA 2 mM em pH 7.0, 50 µl de NADPH 2 mM e 250 µl de DTNB 3 mM. Um volume de 50 µl de GSSG 20 mM foi adicionado para iniciar a reação. A formação de 5,5'-Tiobis ácido 2-nitrobenzóico (TNB) foi acompanhada a 412 nm. Para calcular a atividade da enzima utilizamos a seguinte equação: $E = 100 \times A/[\text{Hb}]$, onde E é a atividade da enzima em unidades internacionais (UI)/grama de hemoglobina; A é o número de unidades de enzima da amostra, sendo calculada pela equação: $\Delta A/13.600 \times V_h/V_c$, onde ΔA é a diferença da absorbância em 412 nm em um minuto; 13.600 é o coeficiente de extinção do TNB a 412 nm; V_h é o volume do hemolisado na cubeta; V_c é o volume total da cubeta e [Hb] é a concentração de hemoglobina do hemolisado em g/dl (Beutler, 1975).

Catalase (CAT)

Os ensaios para dosagem da atividade da catalase foram conduzidos adicionando-se as amostras a tampão fosfato 50 mM e H_2O_2 10 mM (Aebi, 1984). A queda nos valores de absorbância foi seguida em 240 nm. O cálculo da atividade enzimática foi feita pela seguinte equação: $(2,3/\Delta t) \cdot (a/b) \cdot (\log A_1/A_2)$, onde a é o volume de hemolisado na cubeta e b é o volume total da cubeta; A_1 é o valor da absorbância em $t = 0$ e A_2 é o valor da absorbância no tempo final, que em nosso caso é de 15 segundos após o início da reação.

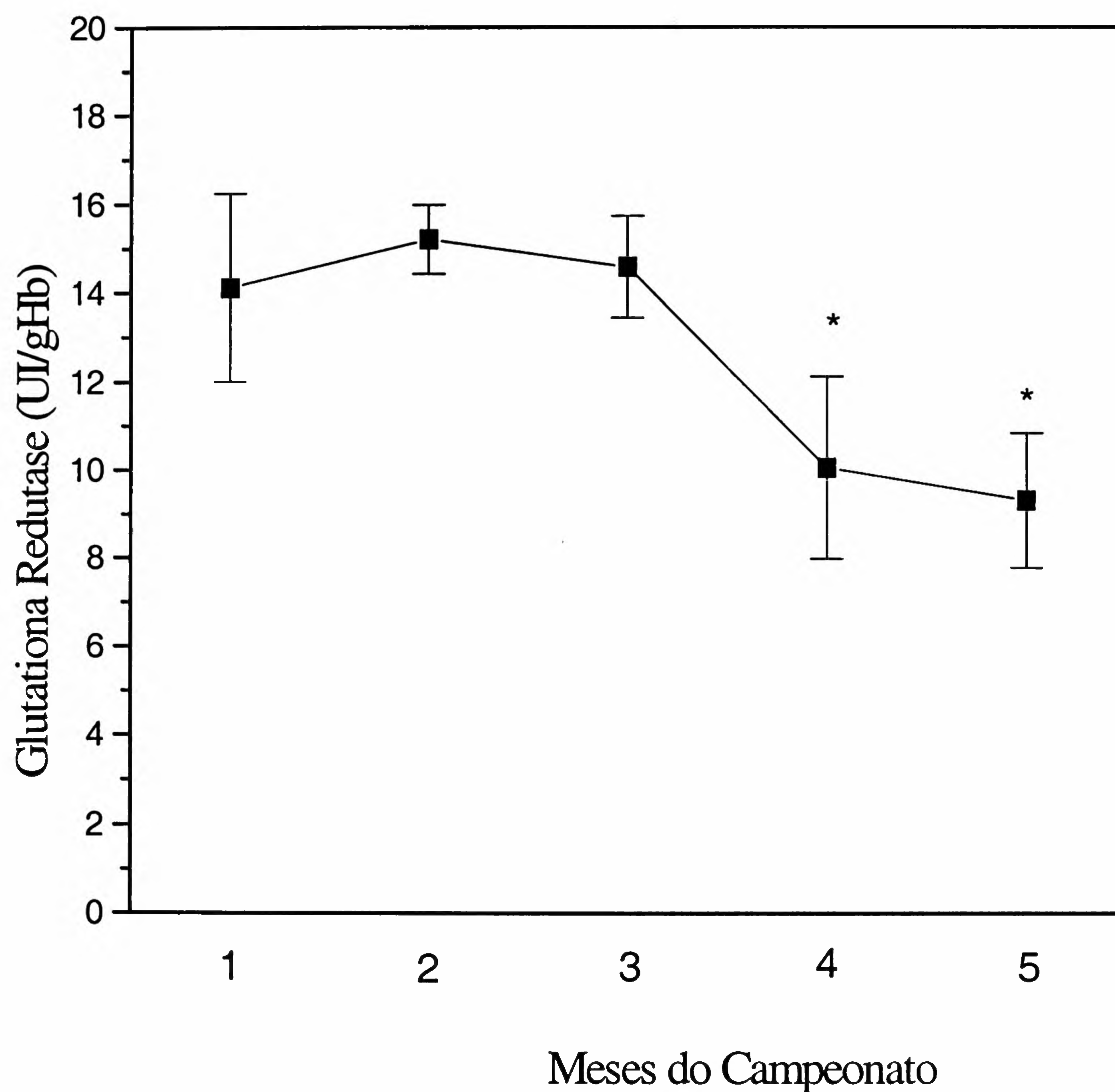
Análise estatística

Foi utilizado o “software” GraphPad InStat® (San Diego, CA) para conduzir as análises estatísticas, o teste utilizado foi “one way” ANOVA para amostras pareadas, e o teste de Tukey foi adotado como pós teste.

RESULTADOS

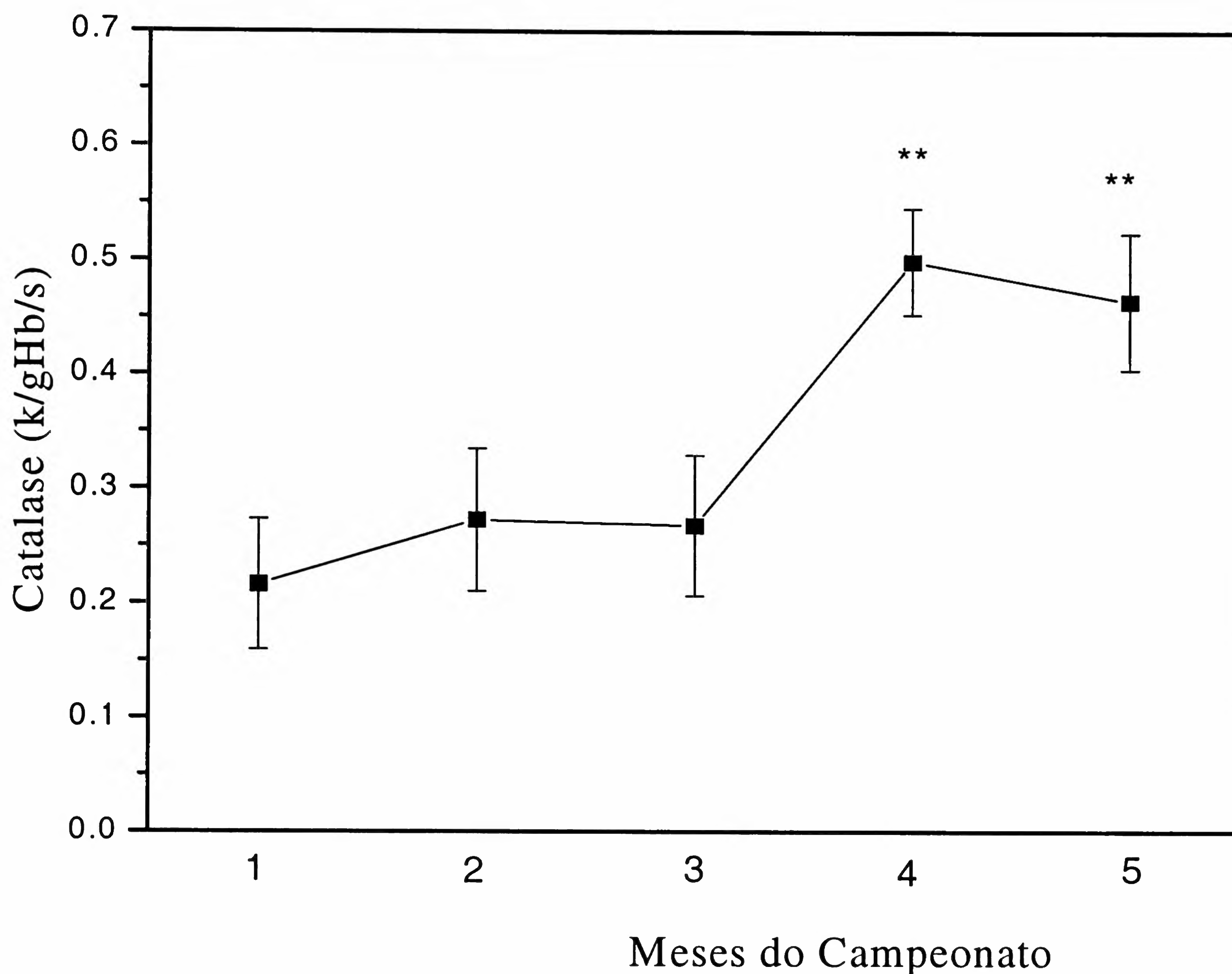
Efeito de cinco meses de campeonato na atividade das enzimas antioxidantes

O perfil de atividade das enzimas antioxidantes GR e a CAT do hemolisado mostrou comportamento diferenciado entre elas em função da progressão no campeonato. Podemos observar pela FIGURA 1 uma queda significativa ($p < 0,05$) na atividade da GR nas duas últimas análises. Nesse mesmo período, a atividade da CAT exibe aumento bastante significativo ($p < 0,001$) em sua atividade (FIGURA 2).



(n = 21)

FIGURA 1 - Perfil da atividade da enzima glutaciona redutase ao longo de cinco meses de período competitivo. Resultados são média \pm DP (n = 21) * $p < 0,05$ em relação às análises 1, 2 e 3.



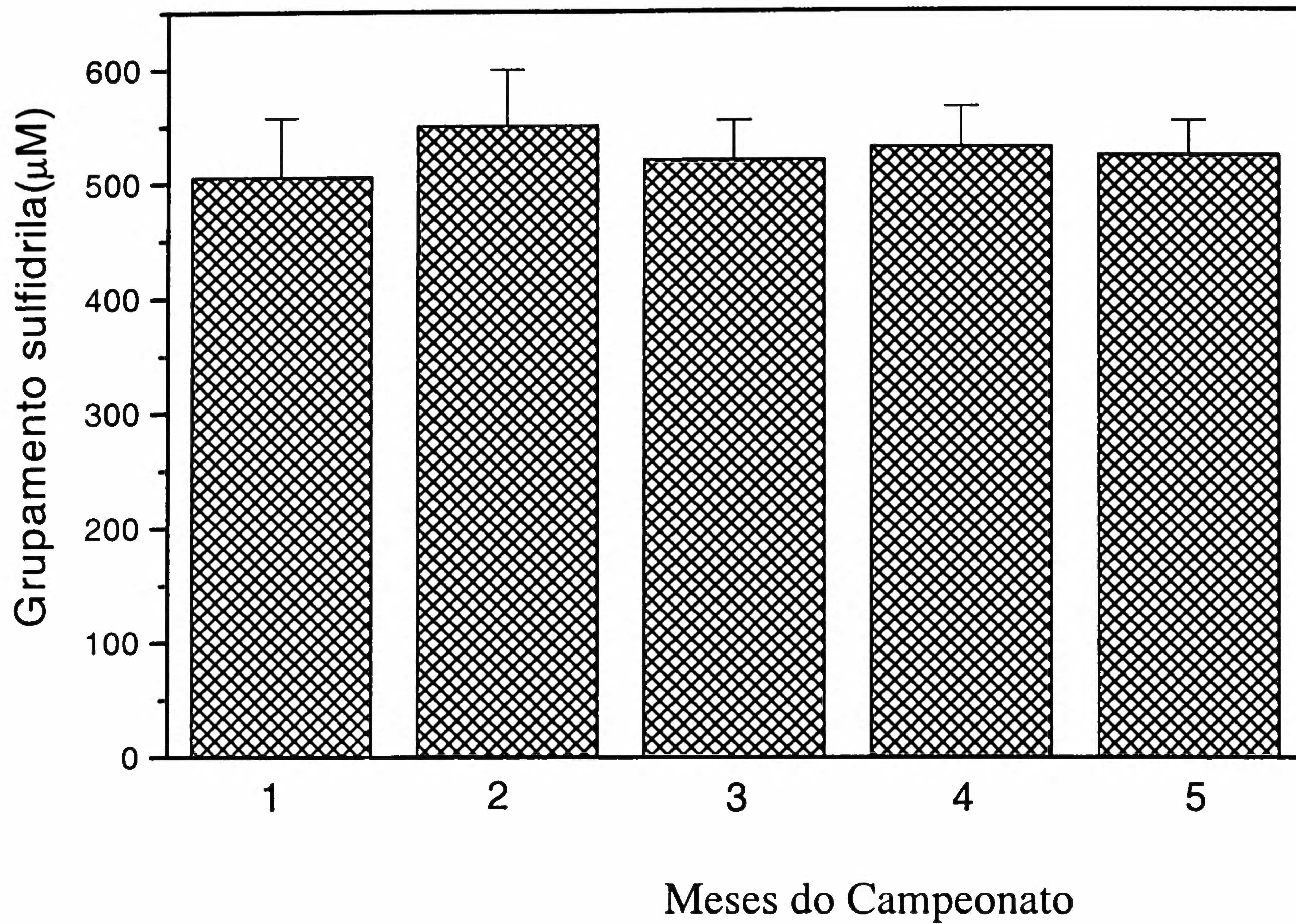
(n = 21)

FIGURA 2 Perfil da atividade da enzima catalase ao longo de cinco meses de período competitivo. Resultados são média \pm DP (n = 21) ** p < 0,001 em relação às análises 1, 2 e 3.

Efeito de cinco meses de campeonato em marcadores de estresse oxidativo e lesão muscular

A maioria das proteínas plasmáticas possui resíduos de cisteína (com grupamentos sulfidríla livres), que podem ser oxidados pela ação de radicais livres, desempenhando, portanto, um papel de proteção no plasma. Dessa forma, a

quantificação da concentração plasmática dos grupamentos sulfidríla totais (GS) fornece uma idéia do nível de ataque oxidativo a proteínas plasmáticas. A FIGURA 3 mostra que não houve nenhuma alteração significativa nesse parâmetro em nenhuma das análises. A concentração plasmática de GS permaneceu em torno de 500 μ M, com pequena variação ao longo dos cinco meses.



(n = 21)

FIGURA 3 - Perfil da concentração plasmática de grupamentos sulfidríla (GS) ao longo de cinco meses de período competitivo. Resultados são média \pm DP (n = 21).

O ácido úrico, por sua vez, pode desempenhar tanto o papel fisiológico de antioxidante celular quanto sua concentração elevada pode sugerir uma maior atividade da enzima xantina oxidase, indicando um aumento na produção de radical ânion superóxido por essa via (Hellsten, 1994). Podemos observar pela FIGURA 4 que a concentração plasmática de ácido úrico também não sofreu alterações significativas

durante a temporada competitiva, variando em média entre 5,0 e 6,0 mg/ml, embora não tenhamos os dados referentes a primeira análise, devido a problemas no processamento das amostras. É importante salientar que os marcadores mostrados nas FIGURAS 3 e 4 permaneceram, inclusive, dentro dos valores de referência para sujeitos não atletas.

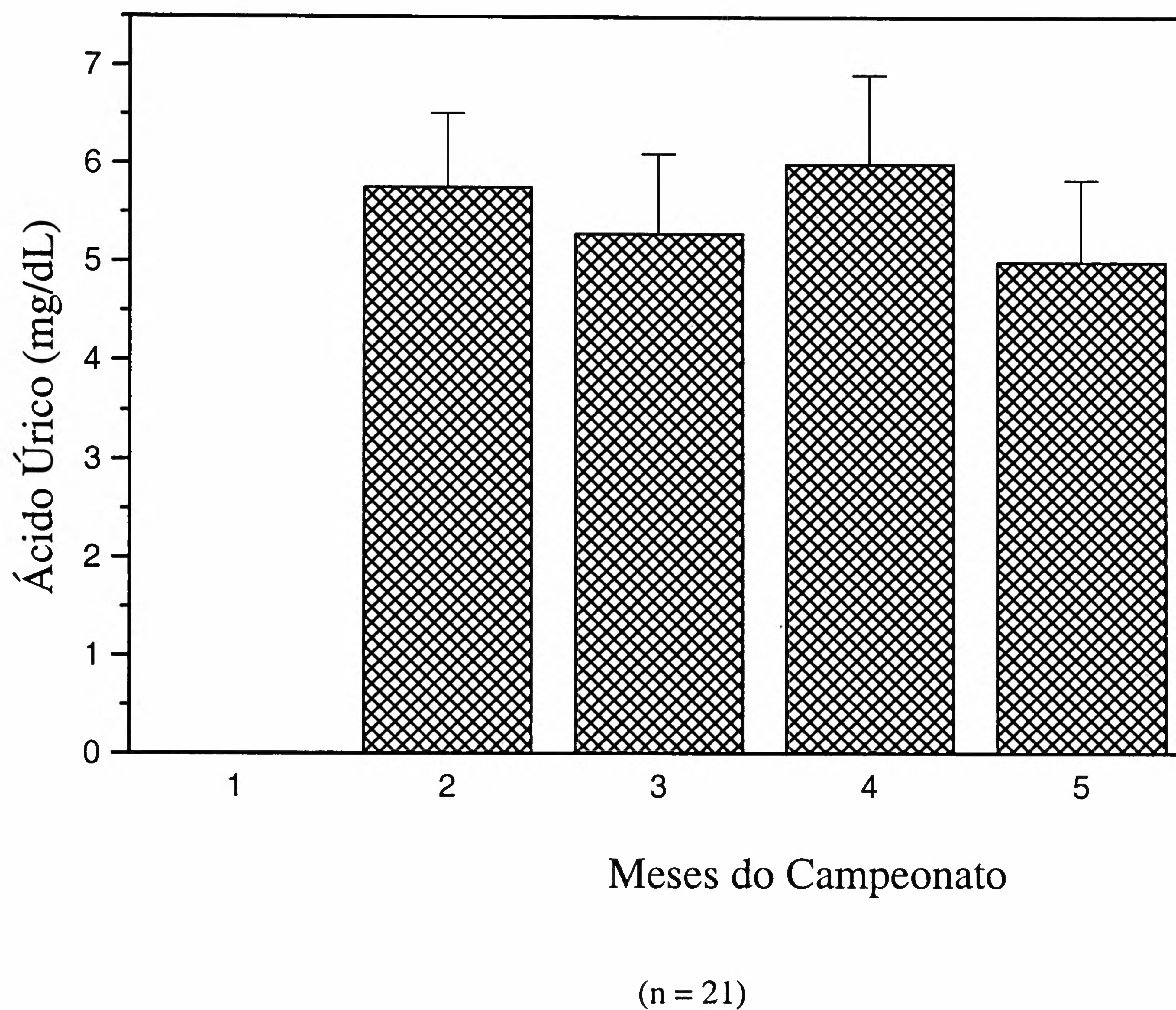


FIGURA 4 Perfil da concentração plasmática de ácido úrico ao longo de cinco meses de período competitivo. Resultados são média \pm DP (n = 21).

A atividade da enzima CK dosada no plasma, utilizada para quantificar os níveis de alteração muscular também não mostrou variação significativa durante a temporada (FIGURA 5), embora tenha apresentado grande variabilidade

entre os sujeitos. Podemos observar também que os valores médios da concentração plasmática da CK encontrados nos jogadores de futebol sempre estiveram bem acima da média dos valores de referência para sujeitos não atletas.

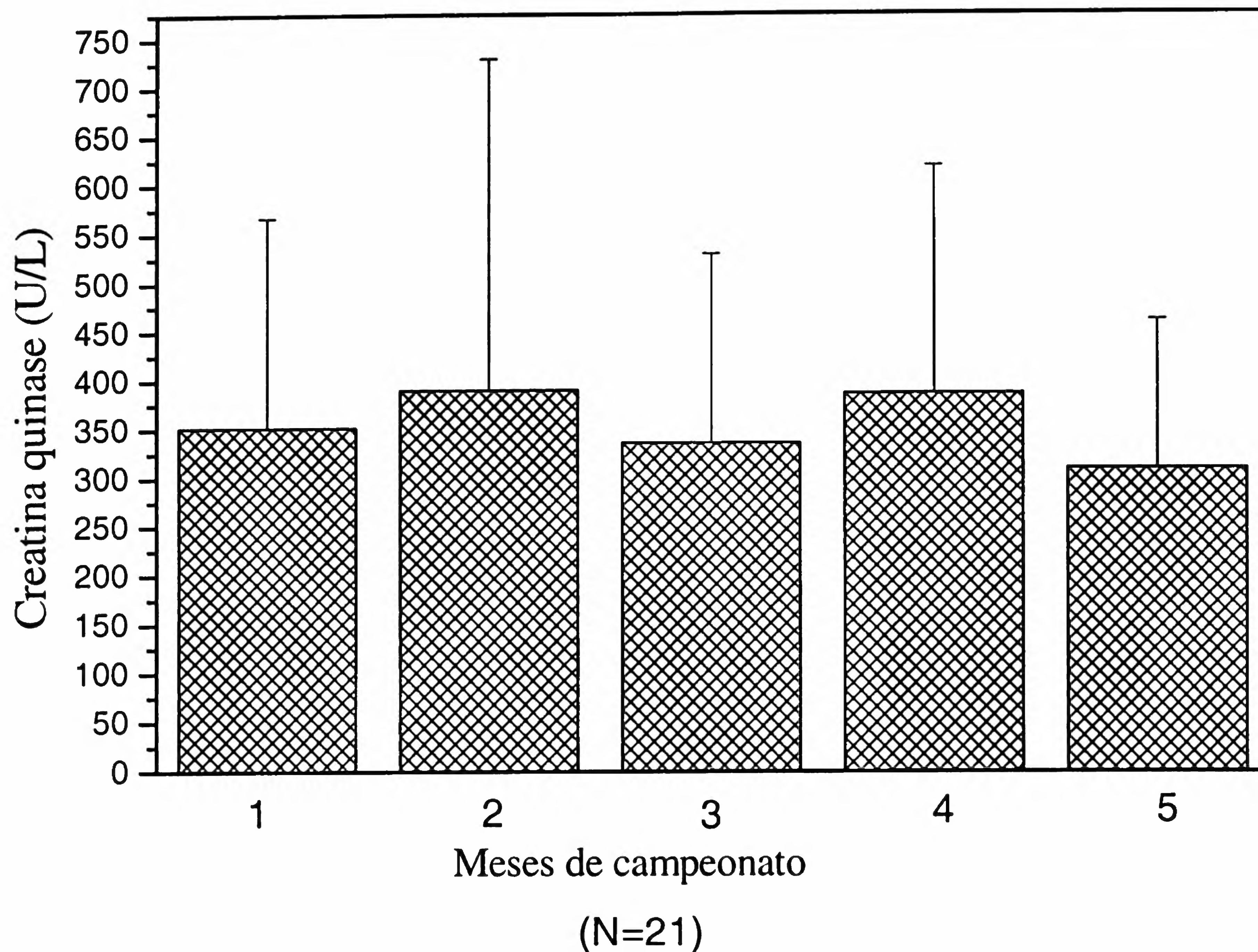


FIGURA 5 - Perfil da atividade plasmática da enzima creatina quinase ao longo de cinco meses de período competitivo. Resultados são média \pm DP (n = 21).

DISCUSSÃO

Atividade das enzimas antioxidantes

Embora de formas diferenciadas, as enzimas estudadas neste trabalho CAT e GR atuam na detoxificação de EROs, mais especificamente no controle dos níveis de peróxido de hidrogênio intracelular (Chance, Sies & Boveris, 1979). Apesar do H_2O_2 não ser uma espécie radicalar, nem ter alto potencial oxidante, o mesmo pode reagir com metais de transição, principalmente o ferro, ligado ou não a grupamentos heme localizados dentro das células, dando origem ao radical hidroxila (OH), um poderoso oxidante (Yu, 1994). Portanto, a manutenção de baixos níveis dessa substância é de fundamental importância para que nenhuma estrutura subcelular sofra ataque oxidativo intenso e mantenha suas devidas funções. O H_2O_2 é desidratado enzimaticamente a H_2O e O_2 pela enzima catalase (CAT). A outra enzima responsável pela detoxificação do H_2O_2 , glutathiona peroxidase (GPX), tem menos especificidade para o substrato, reduzindo também hidroperóxidos a

álcool. O km para H_2O_2 da CAT e GPX são diferentes. Enquanto a GPX atinge sua V_{max} em baixas concentrações, a CAT só atinge sua velocidade máxima de catálise em altas concentrações de H_2O_2 (Powers et alii, 1999). Na reação catalisada pela GPX a glutathiona reduzida (GSH) funciona como doador de elétrons. A glutathiona oxidada (GSSG) formada nesta reação é reduzida a GSH, às custas de NADPH pela ação da enzima glutathiona redutase (GR). Embora não seja considerada uma das enzimas principais do sistema enzimático antioxidante, ela é fundamental para a atuação normalizada da GPX.

Neste estudo mostramos o comportamento da atividade das enzimas CAT e GR dosadas em eritrócitos ao longo da temporada competitiva de uma equipe de futebol. Embora a literatura seja carente com relação a estudos conduzidos em jogadores de futebol, alguns trabalhos relataram aumento na atividade das enzimas antioxidantes em eritrócitos após treinamento aeróbio (Selamoglu, Turgay, Kayatekin, Gonenc & Yslengen, 2000) em corredores (Robertson, Maughan, Duthie &

Morrice, 1991) e ciclistas profissionais (Mena, Maynar, Gutierrez, Maynar, Timon & Campillo, 1991). Brites, Evelson, Christiansen, Nicol, Basílico, Wikinski e Llesuy (1999) mostraram que jogadores de futebol possuem capacidade antioxidante plasmática total e atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase aumentada em relação a sujeitos sedentários. Nossos dados mostraram que a atividade das enzimas GR e CAT se altera à medida que a equipe atinge fases mais decisivas, o que teóricamente significa intensidades maiores de esforço para os atletas durante os jogos, uma vez que as equipes melhores qualificadas vão se sobrepondo e eliminando equipes menos qualificadas. Nas fases iniciais da competição, a atividade da enzima GR estava aparentemente em seu pico, enquanto a enzima CAT ainda não se encontrava em atividade máxima, atingindo seu pico, justamente, nas fases finais da competição, quando a GR já apresentava queda de cerca de 40% em sua atividade. Ou seja, as duas enzimas parecem funcionar de forma integrada, pois a medida que a atividade da GR diminui, a atividade da CAT aumenta. Os motivos pelos quais tais alterações ocorrem, principalmente nos eritrócitos, ainda não são totalmente conhecidos, e ainda merecem estudos mais detalhados.

Eritrócitos são células anucleadas e portanto não possuem o material genético necessário para que ocorra síntese protéica. Alguns autores sugerem que alterações a curto prazo na atividade destas enzimas induzidas por atividades agudas se dão por interações diretas com a estrutura protéica da enzima (Tauler, Gimeno, Aguiló, Guix & Pons, 1999). Recentemente, Kosenko, Kaminsky, Stavrovskaya, Sirota e Kondrashova (1997) propuseram que o H_2O_2 possui efeito estimulatório em outra enzima antioxidante, a superóxido dismutase, enquanto o radical ânion superóxido parece ter efeito estimulante sobre a CAT. O mecanismo molecular deste efeito na atividade da CAT, embora não tenha sido estudado em detalhes, parece estar na redução do Fe^{3+} para Fe^{2+} presente no grupamento heme de sua molécula (Hawkins, Poyner, Jackson, Letcher, Lander & Irvine, 1993), deixando a CAT mais ativa quando reduzida. Uma outra possibilidade para se explicar o fenômeno observado é o *Km* da CAT para os peróxidos, o que poderia justificar seu pico de atividade nas fases finais, mais intensas da competição, quando provavelmente a produção de EROs estava mais alta e a capacidade de detoxificação intracelular era menor, observada pela própria queda na atividade

da GR.

A queda na atividade da GR na fase final da competição também pode ser atribuída a diminuição na concentração de NADPH. Estudos mostram que atividades de alta intensidade, que induzem aumento na lactacidemia, como é o caso dos esforços do futebol diminuem a concentração de NADPH (Tauler et alii, 1999), um dos substratos da GR, sem o qual a reação catalisada por esta enzima não acontece.

Marcadores de estresse oxidativo e lesão muscular

Os marcadores de estresse oxidativo e lesão muscular aqui estudados não mostraram alterações significativas durante toda a temporada competitiva. Alguns estudos mostram que a concentração plasmática de urato é um bom indicativo da capacidade antioxidante do plasma, além de também atuar como indicativo de danos oxidativo sofridos em decorrência de ataques radiculares (Rosell, Regnstrom, Kallner & Hellenius, 1999). Mikami, Yoshino e Ito (2000) demonstraram, ainda, uma relação inversa entre a concentração plasmática de ácido úrico e níveis de peroxidação lipídica. Portanto, a ausência de alterações na concentração deste parâmetro observada neste estudo sugere baixos níveis de peroxidação lipídica neste grupo de atletas, embora não tenhamos dosado esse parâmetro nesse trabalho. Concentrações plasmáticas de grupamentos sulfidril totais inalteradas reforçam a hipótese de pequeno dano oxidativo nos atletas analisados. Olinescu, Talaban, Nita e Mihaescu (1995) detectaram aumento na oxidação de grupamentos SH livres no plasma em decorrência do estresse oxidativo induzido pelo treinamento físico. De forma contrária aos nossos resultados, Brites et alii (1999), também estudando jogadores de futebol, mostraram que embora os atletas possuíssem capacidade antioxidante mais alta quando comparados a sujeitos sedentários, exibiam aumento de alguns marcadores de estresse oxidativo. De forma semelhante, vários outros estudos mostraram aumento de ataque radicalar à diversas estruturas intracelulares, tais como proteínas, lipídeos de membrana e DNA induzidas pelo treinamento físico (Radak et alii, 1999). Embora não tenhamos analisado os mesmos marcadores, a diferença em relação aos demais trabalhos pode estar que neste trabalho fizemos um estudo longitudinal, ao longo de toda a temporada competitiva, utilizando jogadores com histórico de

treinamento relativamente grande e submetidos a uma preparação anterior de 90 dias para esta competição.

As concentrações plasmáticas da CK estiveram sempre acima dos valores de referência para sujeitos sedentários, evidenciando um maior nível de alteração muscular, ou pelo menos uma maior permeabilidade da membrana sarcolemal neste grupo de atletas. Nossa interpretação é que deve haver uma outra faixa de referência para os valores da CK nesta população, uma vez que os atletas participantes do grupo experimental não apresentaram nenhum tipo de lesão muscular que os impedisse de participar dos jogos por motivo de tratamento. Aliás, a frequência dos atletas ao departamento médico foi praticamente inexistente durante esse período. Corroborando nossa hipótese, inúmeros estudos mostram aumento deste parâmetro em resposta ao treinamento físico, principalmente em atividades que exigem contrações excêntricas (Lee, Godfarb, Rescino, Hedge, Patrick & Apperson, 2002; Newhan, Jones

& Edwards, 1986; Nosaka & Clarkson, 1995).

Concluindo, este estudo mostrou que a atividade das enzimas antioxidantes analisadas no grupo de jogadores de futebol foi eficiente em combater um possível efeito deletério induzido pelo aumento de EROs, mantendo níveis baixos de estresse oxidativo mesmo com o aumento na intensidade de esforço, uma vez que a equipe progrediu para as fases finais da competição. Tal eficiência se deve, provavelmente, a um programa de preparação adequado, que levou os atletas a uma boa resposta adaptativa. Por outro lado, embora a capacidade antioxidante tenha se mostrado eficiente, os níveis de alteração muscular de todo o grupo de atletas se mostraram bastante aumentados em relação aos valores de referência para sujeitos não atletas, sugerindo que jogadores de futebol possuem maior atividade plasmática da CK pelo próprio estresse induzido pelo treinamento a que são submetidos diariamente e que tais alterações não são necessariamente de origem oxidativa.

ABSTRACT

BLOOD OXIDATIVE STRESS, ANTIOXIDANT ENZYMES AND MUSCLE DAMAGE BIOMARKERS CHANGES DURING A COMPETITIVE SEASON IN SOCCER PLAYERS

Soccer players have enhanced their performance on the last decades through the improvement of training loads. This leads to an increase in reactive oxygen species (ROS) production that can react with cellular structures affecting cellular homeostasis. However physical training also acts modulating the intracellular antioxidant systems improving its capacity to detoxify ROS. So the aim of this study was to verify the behavior of blood antioxidant enzymes and oxidative stress markers as well as the muscular damage level in a soccer team during a whole season. The results showed that the studied antioxidant enzymes reached their respective activities peak in different moments of the season, the oxidative and muscle damage markers did not show any variation during the whole season. Our Data showed that the training program was effective to improve the antioxidant enzymes activity avoiding the possible risks of muscle oxidative stress induced damage.

UNITERMS: Training; Uric acid; SH groups; Creatine kinase; Oxidative stress.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase. In: PACKER, L. (Ed.). **Methods in enzymology**. Orlando: Academic, 1984. p.121-26.

ALESSIO, H.M. Exercise-induce oxidative stress. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v.25, p.218-24, 1993.

ALESSIO, H.M.; GOLDFARB, A.H.; CUTLER, R.G. MDA content increases in fast and slow twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. **American Journal of Physiology**, Washington, v.255, p.C874-77, 1988.

ANDERSEN, H.R.; NIELSEN, J.B.; NIELSEN, F.; GRANDJEAN, P. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v.43, p.562-68, 1997.

- ASTRAND, P.O.; RODAHL, K. **Textbook of work physiology**. New York: McGraw Hill, 1986.
- BANGSBO, J. The physiology of soccer. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.619, p.1-155, 1994. Supplement.
- BARCLAY, J.K.; HANSEL, M. Free radicals may contribute to oxidative muscle fatigue. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v.69, p.279-84, 1990.
- BEUTLER, E. **Red cell metabolism: a manual of biochemical methods**. 2nd ed. London: Grune & Stratton, 1975.
- BRITES, F.D.; EVELSON, P.A.; CHRISTIANSEN, M.G.; NICOL, M.F.; BASÍLICO, M.J.; WIKINSKI, R.W.; LLESUY, S.F. Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. **Clinical Science**, London, v.96, p.381-85, 1999.
- BROTTO, M.A.P.; NOSEK, T.M. Hydrogen peroxide disrupts Ca²⁺ release from the sarcoplasmic reticulum of rat skeletal muscle fibres. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.81, n.2, p.731-37, 1996.
- CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiological Reviews**, Washington, v.59, n.3, p.527-605, 1979.
- FAURE, P.; LAFOND, J.L. Measurement of plasma sulphhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. In: FAVIER, A.E. et alii. (Eds.). **Analysis of free radicals in biological systems**. Basel: Birkhäuser Verlag, 1995. p.237-48.
- FRANKIEWICZ-JOZKO, A.; FAFF, J.; SIERADZAN-GABELSKA, B. Changes in concentration of tissue free radical marker and serum creatine kinase during the post-exercise period in rats. **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, v.74, n.5, p.470-74, 1996.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 2nd ed. Oxford: Clarendon, 1989.
- HAWKINS, P.T.; POYNER, D.R.; JACKSON, T.R.; LETCHER, A.J.; LANDER, D.A.; IRVINE, R.F. Inhibition of iron-catalysed hydroxyl radical formation by inositol polyphosphates: a possible physiological function for myo-inositol hexakisphosphate. **Biochemical Journal**, London, v.294, p.929-34, 1993.
- HELLSTEN, Y. Xanthine dehydrogenase and purine metabolism in man. With special reference to exercise. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.621, p.1-73, 1994. Supplement.
- JENKINS, R.R.; GOLDFARB, A. Introduction: oxidant stress, aging and exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v.25, p.210-12, 1993.
- JI, L.L. Exercise induced modulation of antioxidant defense. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v.959, p.82-92, 2002.
- JI, L.L.; DILLON, D.; WU, E. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. **American Journal of Physiology**, Washington, v.258, p.R918-23, 1990.
- KOSENKO, E.A.; KAMINSKY, Y.G.; STAVROVSKAYA, I.G.; SIROTA, T.V.; KONDRASHOVA, M.N. The stimulatory effect of negative air ions and hydrogen peroxide on the activity of superoxide dismutase. **FEBS Letters**, Amsterdam, v.410, p.309-12, 1997.
- LEE, J.; GOLDFARB, A.H.; RESCINO, M.H.; HEDGE, S.; PATRICK, S.; APPERSON, K. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v.34, p.443-48, 2002.
- MENA, P.; MAYNAR, M.; GUTIERREZ, J.M.; MAYNAR, J.; TIMON, J.; CAMPILLO, J.E. Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers: adaptation to training. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.12, n.6, p.563-66, 1991.
- MIKAMI, T.; YOSHINO, Y.; ITO, A. Does a relationship exist between the urate pool in the body and lipid peroxidation during exercise? **Free Radical Research**, London, v.32, n.1, p.31-9, 2000.
- NEWHAN, D.J.; JONES, D.A.; EDWARDS, R.H.T. Plasma creatine kinase changes after concentric and eccentric muscle contractions. **Muscle & Nerve**, New York, v.9, p.59-63, 1986.
- NOSAKA, K.; CLARKSON, P.M. Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v.27, p.1263-69, 1995.
- OLINESCU, R.; TALABAN, D.; NITA, S.; MIHAESCU, G. Comparative study of the presence of oxidative stress in sportsmen in competition and aged people, as well as the preventive effect of selenium administration. **Romanian Journal of Internal Medicine**, Bucuresti, v.33, n.1/2, p.47-54, 1995.
- POWERS, S.K.; CRISWELL, D.; LAWLER, J.; JI, L.L.; MARTIN, D.; HERB, R.A.; DUDLEY, G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. **American Journal of Physiology**, Washington, v.266, p.R375-380, 1994.
- POWERS, S.K.; JI, L.L.; LEEUWENBURGH, C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v.31, p.987-97, 1999.

RADAK, Z.; KANEKO, T.; TAHARA, S.; NAKAMOTO, H.; PUCSOK, J.; SASVARI, M.; NYAKAS, C.; GOTO, S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v.27, n.1/2, p.69-74, 1999.

ROBERTSON, J.D.; MAUGHAN, R.J.; DUTHIE, G.G.; MORRICE, P.C. Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load. **Clinical Science**, London, v.80, p.611-8, 1991.

ROSELL, M.; REGNSTROM, J.; KALLNER, A.; HELLENIUS, M.L. Serum urate determines antioxidant capacity in middle-aged men: a controlled, randomized diet and exercise intervention study. **Journal of Internal Medicine**, Oxford, v.246, n.2, p.219-26, 1999.

SELAMOGLU, S.; TURGAY, F.; KAYATEKIN, B.M.; GONENC, S.; YSLENGEN, C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. **Acta Physiologica Hungarica**, Budapest, v.87, n.3, p.267-73, 2000.

SMITH, I.K.; VIERHELLER, T.L.; THORNE, C.A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). **Analytical Biochemistry**, New York, v.175, p.408-13, 1988.

SMOLKA, M.B.; ZOPPI, C.C.; ALVES, A.A.; SILVEIRA, L.R.; MARANGONI, S.; PEREIRA-DASILVA, L.; NOVELLO, J.C.; MACEDO, D.V. HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. **American Journal of Physiology**, Washington, v.279, p.R1539-45, 2000.

TAULER, P.; GIMENO, I.; AGUILÓ, A.; GUIX, M.P.; PONS, A. Regulation of erythrocyte antioxidant enzyme activities in athletes during competition and short-term recovery. **Pflügers Archiv**, Berlin, v.438, p.782-87, 1999.

TOWN, M.H.; GEHM, S.; HAMMER, B. A sensitive colorimetric method for the enzymatic determination of uric acid. **Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biology**, v.23, n.9, p.591, 1985.

YU, B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological Reviews**, Washington, v.74, n.1, p.139-62, 1994.

NOTAS

Cláudio César Zoppi e Joaquim Antunes-Neto são bolsistas Fapesp (Proc. no. 98/15922-9 e 99/06222-6, respectivamente).

Fernando Catanho da Silva é bolsista PIBIC/CNPq.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Fapesp (00/07962-2) e CNPq (523383-96-7).

Recebido para publicação em: 21 maio 2002

Revisado em: 16 maio 2003

Aceito em: 22 maio 2003

ENDEREÇO: Cláudio César Zoppi
Laboratório de Bioquímica do Exercício
Departamento de Bioquímica
Instituto de Biologia – UNICAMP
13083-970 Campinas - São Paulo BRASIL
e-mail: zopp@zipmail.com.br