

AVALIAÇÃO GENOTÓXICA EM SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS, SUBMETIDOS À ATIVIDADE FÍSICA AERÓBICA

**Tatiana Maria Barreto de FREITAS (1); Marília Cardoso COELHO (2); Emmanuel
Wassermann MORAES E LUZ (3)**

(1) CEFET – PI / Teresina, Rua Firmino Pires, 2182, Vermelha. CEP: 64018-070 e-mail: biotati2007@yahoo.com.br

(2) CEFET – PI/THE, e-mail: mcc.rhcp@hotmail.com

(3) CEFET – PI / UNED – FLORIANO, e-mail: professorluz@gmail.com

RESUMO

Atividades aeróbicas possuem elevado consumo de oxigênio, que por sua vez, aumentam a quantidade de radicais livres presentes no organismo, sendo estes, conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ERO) e provocando varias formas de dano ao DNA. Uma das formas de verificar o aparecimento destes danos é observando a frequência de micronúcleos, que são porções de cromatina provenientes de mitoses aberrantes após a ação de agentes genotóxicos. Então o objetivo deste trabalho experimental é avaliar os danos genotóxicos em sangue periférico de camundongos machos e fêmeas, que foram submetidos à atividade física aeróbica. Foram utilizados 28 animais com peso entre 20g e 40g divididos em 6 grupos distintos e os animais tinham livre acesso a alimentação e a água. Os animais dos grupos ativos foram colocados para realizar atividade de natação, enquanto os animais do grupo controle negativo ficaram em repouso. Então pela característica da atividade espera-se que os animais exercitados de forma aguda tenham uma frequência de micronúcleos maior que os animais exercitados de forma prolongada por 5 dias e que estes dois grupos tenham uma frequência maior que os animais do controle negativo.

Palavras-chave: Radicais livres, sangue periférico, Exercício, estresse oxidativo, micronúcleo.

1. INTRODUÇÃO

O treinamento físico é conhecido por induzir uma série de adaptações específicas ao estímulo aplicado. As alterações fisiológicas e bioquímicas a que o organismo se submete em resposta ao estímulo crônico do treinamento, já estão demonstradas na literatura específica e, portanto, são bem conhecidas.

O treinamento físico é conhecido por induzir uma série de adaptações bioquímicas e fisiológicas, as quais são creditadas as melhoras do rendimento esportivo.

Sabe-se que tais respostas adaptativas são específicas ao estímulo aplicado e, portanto, de alguma forma decodificada intracelularmente. Os mecanismos celulares responsáveis por essa sinalização ainda são pouco compreendidos e, nos últimos anos, começaram a receber maior atenção de pesquisadores.

Em geral essas atividades possuem elevado consumo de oxigênio, havendo também aumento na quantidade de radicais livres presentes no organismo, sendo estes, conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ERO) e provocando varias formas de dano ao DNA.

Diante dos abusos da atividade física vê-se necessário uma análise quanto ao nível genotóxico em camundongos submetidos à atividade física aeróbica a fim de verificar os danos causados por tais ações, como estresse oxidativo, produção excessiva de ERO e de espécies reativas de nitrogênio (ERN), processos inflamatórios,entre outros.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Sabe-se que o exercício exaustivo causa dano muscular e induz um aumento da atividade enzimática citosólica no plasma sangüíneo (creatinaquinase, transaminases ou lactato desidrogenase). O exercício forçado se caracteriza por um aumento no consumo de oxigênio e um desequilíbrio entre os mecanismos pró-oxidantes da homeostase celular (YAGI, 1987), fomentando, portanto, a produção de radicais livres que pode induzir destruição celular (VANCINI et al, 2000 e FAGUNDES et al, 2005).

O estresse oxidativo é importante no esporte de competição. O esportista defende-se deste efeito através dos antioxidantes endógenos, sintetizados pelo organismo, ou dos antioxidantes exógenos, provenientes da dieta. Deve também ser levado em consideração que o estresse oxidativo é necessário, já que tanto nos processos inflamatórios como na defesa frente às infecções são formados radicais livres a fim de destruir agentes patogênicos. Mas, em determinadas circunstâncias, as defesas antioxidativas do organismo não conseguem evitar o dano oxidativo que atinge lipídios, proteínas e ácidos nucléicos (BULGER EM, 1998 e FAGUNDES et al, 2005).

O desportista realiza atividades a fim de alcançar o máximo de energia muscular dependente do oxigênio, e do hidrogênio, que se organizam para formar água (GARCÍA et al, 2000; BULGER e WINKLER, 1999).

Exercícios regulares extenuantes ou irregulares podem predispor ao estresse oxidativo, sendo ambos relevantes. Por um lado, no esporte de fim de semana, o praticante não adapta o organismo ao estresse oxidativo e, por outro, há intenso estresse oxidativo no esforço extenuante de alta intensidade como nas maratonas, ciclismo de estrada, *triathlon* (GARCÍA, 2000 e VANCINI et al, 2000). A homeostase das células saudáveis é mantida dentro de certos limites, que estão condicionados por um programa genético de diferenciação e especialização em torno das células vizinhas e pela disponibilidade dos substratos. Quando esta margem é ultrapassada, ocorre lesão celular (ORRENIUS, 1987), que é reversível até certo ponto, mas se o estímulo à lesão persiste ou é muito intenso, produz-se lesão irreversível, seguida de morte celular(GARCÍA; COMPORTE,1987).

Radical livre é qualquer molécula ou átomo que tem, na sua última camada, um ou mais elétrons desemparelhados (isto é, em números ímpares). A zona magnética criada por sua rotação (*spin*) não é compensada pela rotação inversa de um elétron pareado (BIANCHI e ANTUNES,1999).

Pode ser eletricamente neutro ou carregado positiva ou negativamente. Tem meia vida curta em concentrações muito pequenas (causando grande dificuldade na sua determinação) (LOUDON GM, 1988).

Os radicais livres promovem reações com substratos biológicos podendo ocasionar danos às biomoléculas e, conseqüentemente, afetar a saúde humana. Os danos mais graves são aqueles causados ao DNA e RNA. Se a cadeia do DNA é quebrada, pode ser reconectada em outra posição alterando, assim, a ordem de suas bases. Esse é um dos processos básicos da mutação e o acúmulo de bases danificadas pode desencadear a oncogênese (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Uma enzima que tenha seus aminoácidos alterados pode perder sua atividade ou, ainda, assumir atividade diferente. Ocorrendo na membrana celular, a oxidação de lipídios interfere no transporte ativo e passivo normal através da membrana, ou ocasiona a ruptura dessa, levando à morte celular. A oxidação de lipídios no sangue agride as paredes das artérias e veias, facilitando o acúmulo desses lipídios, com conseqüente aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral. As proteções conhecidas do organismo contra as **ERO** e **ERN** abrangem a proteção enzimática ou por micromoléculas, que podem ter origem no próprio organismo ou são adquiridas através da dieta(ZOPPI,2005).

Normalmente, o produto final de uma reação, que intervém em um radical livre, é o começo de outra, com a qual o estresse oxidativo se mantém.

Deve ser levado em consideração que o estresse oxidativo é necessário, já que tanto nos processos inflamatórios como na defesa frente às infecções são formados radicais livres a fim de destruir agentes patogênicos.

As ERO- espécies reativas de oxigênio- são produzidas normalmente nos seres vivos como conseqüência de diversos processos metabólicos, que envolvem reações de transferência de elétrons. Reativas as espécies do oxigênio são sabidas bem causam um spectrum largo dos danos celulares devido a inativação de enzima, peroxidase, os danos do ácido nucléico. Recentemente, está crescendo evidencia que radical-induzido livre pode ocorrer em músculos durante os períodos do stress oxidativo (SHUJI OH-ISHI et al, 1997).

Na atividade física aeróbica, o oxigênio molecular realiza a combustão total da glicose resultando na produção de CO_2 , H_2O e energia em ATP.Cerca de 2 a 5% do oxigênio consumido pela mitocôndria é transformado em ERO.

Nos sistemas biológicos, há quatro metabólitos do oxigênio que são radicais livres: o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxila (OH) o singlete de oxigênio ($^1\text{O}_2$). Estes radicais podem organizar-se em torno de inúmeras reações, por exemplo, o singlete de oxigênio surge em reações de fotossensibilização, na qual uma molécula absorve energia por meio da excitação luminosa. Este singlete pode lesionar outras células (neste caso, os carotenóides atuam prevenindo este dano celular) (EVANS & CANNON 1991; WINKLER BS, 1999).

A reatividade do radical de oxigênio é fraca, assim, o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), o monóxido de nitrogênio ($^{\circ}\text{NO}$) não são altamente reativos, e na realidade são precursores da água oxigenada (H_2O_2) e dos peróxidos (ROOH), que podem ser transformados em outros gêneros mais reativos. Esta fraca reatividade permite a sua utilização pelo organismo como mediadores na regulação de determinadas funções biológicas, como a vasodilatação capilar(HALIWELL, 1994;BARREIROS et al,2006).

O conjunto de radicais livres e seus precursores chamam-se espécies reativas de oxigênio (ERO). Estas substâncias atuam como oxidantes e, devido a sua grande reatividade, provocam reações em cadeia (HALIWELL, 1994;BARREIROS et al,2006). O organismo utiliza esta atividade para destruição de agentes patogênicos, ou renovação dos danos musculares depois de um exercício excêntrico não condicionado (PYNE, 1994; MCCARD, 1980).

As ERO também podem ser geradas através da auto-oxidação de pequenas moléculas, produzindo ânion superóxido.Fatores ambientais, como radiação ionizante e não ionizante, poluição ambiental e produtos tóxicos são potenciais geradores de ERO(SOUZA et al,1980).

Durante o metabolismo basal das células aeróbicas normais, existe uma constante produção de ERO acompanhada pela contínua inativação destas formas reativas pelos sistemas antioxidantes.

A produção excessiva de ERO ou a diminuição das defesas antioxidantes provoca um desequilíbrio no estado redox celular conhecido como estresse oxidativo. Este distúrbio pode causar danos a todos os tipos de biomoléculas. As ERO podem alterar a estrutura de proteínas, danificar processos enzimáticos e membranas lipídicas e provocar lesões ao DNA(SOUZA et al,1980).

A genotoxicidade é o setor da genética que estuda os processos que alteram a base genética da vida, quando se trata da estrutura físico-químico, no DNA,é classificado de mutagênese; ou carcinogênese e teratogênese quando fala-se em alteração genética ao nível celular e / ou orgânico (Da Silva et al, 2003). A genotoxicidade é produzida por algum agente que, em virtude de suas propriedades físicas ou químicas, podem induzir ou produzir mudanças hereditárias naquelas peças dos instrumentos genéticos que exerciam o

controle homeostático sobre células somáticas, determinando desse modo sua transformação maligna (Ashby, 1995). Por isso Agências de controle ambiental em diferentes países, bem como a comissão internacional para proteção contra mutágenos e carcinógenos ambientais vêm recomendando a utilização de conjuntos de testes para avaliação de substâncias quanto às suas características genotóxicas com vistas à sua regulamentação para consumo ou liberação para o ambiente. Para tanto, o mais recomendado é a combinação de testes dependendo das características do agente tóxico, bem como devem ser usados vários sistemas biológicos (procariotos e eucariotos), assim como variados tipos de danos ao DNA (mutações gênicas, aberrações cromossômicas, etc.) para melhor avaliar a genotoxicidade (Da Silva et al, 2003).

Análises de genotoxicidade são executadas em bioindicadores de toxicidade, ou de efeitos adversos, que podem ser definidos como: "qualquer resposta biológica, ao nível do indivíduo ou a um nível inferior, a um ambiente químico, que traduz a exposição a esse ambiente"; alterações bioquímicas, fisiológicas e comportamentais incluem-se nesta (W.H.O., 1993; Capela, 2001).

Dentre os testes de avaliação de genotoxicidade preconizados pelas agências internacionais e instituições governamentais, o teste de micronúcleo em medula óssea de roedores *in vivo* é amplamente aceito e recomendado para a avaliação e o registro de novos produtos químicos e farmacêuticos que entram anualmente no mercado mundial (CHOY, 2001, RIBEIRO, et al., 2003).

O teste do micronúcleo é o ensaio, *in vivo*, mais amplamente utilizado para a detecção de agentes clastogênicos (que quebram cromossomos) e aneugênicos (que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal), internacionalmente aceito como parte da bateria de testes recomendada para a avaliação do potencial mutagênico e para o registro de novos produtos químicos que entram anualmente no mercado mundial. Este teste foi desenvolvido de início, em eritrócitos de medula óssea de camundongos, mas é também realizado em ratos. (TAKAHASHI et al, 2004).

O estudo de danos ao DNA induzido por substâncias de origem natural ou sintética ou até mesmo pela atividade física é uma área essencial da toxicologia genética uma vez que mutação em cromossomos é um evento importante na carcinogênese (FENECH, et al., 2005).

Dentre os testes de avaliação de genotoxicidade preconizados pelas agências internacionais e instituições governamentais, o teste de micronúcleo em sangue periférico de roedores *in vivo* é amplamente aceito e recomendado para a avaliação de danos causados pelo treinamento físico e o registro de novos produtos químicos e farmacêuticos que entram anualmente no mercado mundial (CHOY, 2001, RIBEIRO, et al., 2003).

Os micronúcleos originam-se de fragmentos cromossômicos acêntricos, produzidos por quebras cromossômicas, ou ainda de cromossomos inteiros que sofrem retardo em relação aos demais, durante a migração para os pólos da célula em anáfase durante a divisão celular. A avaliação da incidência de micronúcleos vem sendo amplamente utilizada para detectar dano cromossômico estrutural. EVANS e colaboradores (1959) usaram a frequência de micronúcleos para medir o dano citogenético induzido em plantas por irradiações (MARON et al, 2006).

HÖGSTEDT e colaboradores (1981) demonstraram *in vivo* a ação citogenética de diversas substâncias no esfregaço de medula óssea por meio do teste de micronúcleos (HÖGSTEDT, 1981a e b). Na década de 70, o teste de micronúcleos tornou-se viável e confiável pelo estudo de eritrócitos policromáticos da medula óssea em camundongos sendo também possível em sangue periférico, passando a ser um dos mais úteis indicadores de dano citogenético (HEDDLE, 1973a e b, SCHMID, 1975).

Mais recentemente, o teste de micronúcleo emergiu como um dos métodos recomendados para avaliar os danos do cromossomo, uma vez que este método permite a avaliação confiável tanto da perda quanto da ruptura do cromossomo, (FENECH, 2005). Este teste é capaz de revelar a ação de agentes clastogênicos (que quebram cromossomos) e aneugênicos (que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal) (MAC GREGOR et al, 1987). Conseqüentemente, a comparação da frequência de micronúcleos entre populações de células em divisão só seria segura quando a cinética de divisão nuclear, pós o dano ao DNA, fosse idêntica (FENECH, et al., 1997; MARON et al, 2006).

O ensaio serve como um primeiro passo no estudo de compostos mutagênicos, tendo a vantagem de ser mais rápido que a análise de aberrações cromossômicas.

Segundo o procedimento original (HEDDLE, 1973; SCHMID, 1976), os micronúcleos são contados nos eritrócitos jovens. Quando os eritroblastos expelem seu núcleo, ao se transformarem em eritrócitos, os

micronúcleos permanecem no citoplasma onde são facilmente reconhecíveis. Durante um período de 10 a 24 horas, os eritrócitos jovens são policromáticos (RNA-positivos), isto é, coram-se em azul e não em vermelho. Se forem contados os micronúcleos apenas neste tipo de célula, haverá a segurança de que eles se formaram na mitose anterior, na presença do agente mutagênico. Como o período entre a última divisão e a formação do eritrócito policromático (EP) é de 8 a 12 horas, é obvio que só se vai encontrar micronúcleos induzidos pelo agente cerca de 10 horas após o tratamento. Além disso, o intervalo mínimo dentro do qual os micronúcleos podem ser detectados corresponde à duração do estágio de policromático, entre 10 a 24 horas (NETO et al, 2005).

3. METODOLOGIA

Foram utilizados 14 camundongos adultos machos SR-1 e 14 camundongos adultos fêmeas SR-1 com peso corporal entre 20 – 40 g. Os animais foram aclimatizados em ambiente com temperatura de $24^{\circ}\text{C} \pm 2$, sob um ciclo de 12h luz/ 12h escuro, 60% de umidade, com acesso livre a dieta específica (NUVILAB) para camundongos e a água potável.

Foi utilizado um aquário de 80 cm X 40 cm X 40 cm, a superfície da água estava a 25cm do fundo e a temperatura da mesma era de $30^{\circ} \pm 2^{\circ}$. Os animais foram colocados para adaptação ao meio aquático por 3 dias consecutivos anteriores ao início do teste. O nível da água foi aumentado gradativamente nos 3 dias de adaptação.

Exercício de nado do tipo “endurance” (adaptado de Leeuwenburgh e Ji, 1998).

Grupos experimentais

A) Animais alimentados (*ad libitum*):

Grupo Exercício agudo (N=5) macho e (N=5) fêmeas

Grupo Exercício agudo prolongado (N=5) macho e (N=5) fêmea

Repouso (N=5) macho e (N=5) fêmea

Procedimento do teste agudo:

Os animais foram submetidos ao exercício de nado (animais E) enquanto os outros foram colocados em caixas vazias, onde ficarão em repouso (animais R) até o final do procedimento. Cada animal teve o seu peso medido e anotado antes da atividade.

Após 1 hora de nado (animais E) ou de repouso (animais R), foram coletadas amostras de sangue periférico da veia caudal dos animais para o teste de micronúcleos *in vivo*. Após 5 min (tempo suficiente para coleta de sangue) os animais E voltarão a nadar até a exaustão (definida como o tempo em que os animais conseguem permanecer na superfície da água, sem se afogar). O tempo de exaustão será anotado para cada animal E.

Imediatamente após a exaustão, será medido e anotado o peso de cada animal que será então sacrificado (por deslocamento cervical) para coleta de tecidos (sangue e medula óssea) para o teste de micronúcleo *in vivo*.

Todos os animais foram sacrificados imediatamente após o término de todos os procedimentos. Foram coletados tecidos para o teste de micronúcleos *in vivo* (sangue e medula óssea).

Procedimento do teste agudo prolongado:

Os animais foram submetidos ao exercício de nado (animais E) enquanto os outros foram colocados em caixas vazias, onde ficaram em repouso (animais R) até o final do procedimento. Cada animal teve o seu peso medido e anotado antes da atividade.

Após 1 hora de nado (animais E) ou de repouso (animais R), foram coletadas as 1ª amostras de sangue periférico da veia caudal dos animais para o teste de micronúcleos *in vivo*. Após a coleta os animais voltaram a suas gaiolas para descanso de 24h. Este procedimento foi repetido por 5 dias.

No 5º dia, os animais tiveram realizado a 2ª coleta do sangue periférico pela veia caudal e foram mortos por deslocamento cervical para coleta da medula óssea para o teste de micronúcleo *in vivo*.

Todos os animais foram sacrificados imediatamente após o término de todos os procedimentos. Foram coletados tecidos para o teste de micronúcleos *in vivo* (sangue e medula óssea).

3.1. Análise estatística com SPSS

Os resultados serão submetidos à análise da variância (ANOVA) de uma via e, após, ao teste de Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os animais do grupo agudo foram submetidos ao exercício de nado apenas uma vez até a exaustão, após a morte desses animais foram coletadas e amostras de sangue periférico, e analisado a quantidade de micronúcleos encontrados. Esses animais tiveram maior quantidade de dano por apresentar grande incidência de micronúcleos como resultado da intensa atividade física realizada. Na atividade física intensa há um aumento de 10 a 20 vezes no consumo total de oxigênio do organismo e um aumento de 100 a 200 vezes na captação de oxigênio pelo tecido muscular, favorecendo o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio. Na primeira coleta após 1 hora de nado, observou-se um dano menor em relação à segunda coleta, que foi realizada a exaustão do animal, que apresentou muito dano ao DNA associada ao metabolismo acelerado.

Nos animais de exercício agudo prolongado (crônico), a atividade foi realizada 1 hora por dia durante 5 dias, sendo sacrificados no último dia. A primeira coleta foi feita no 1º dia após 1 hora de nado e observou-se a partir da leitura das lâminas menor dano em relação a segunda coleta, já no quinto dia de atividade. Neste grupo os animais têm a oportunidade de descanso de 24h entre uma atividade e outra, tempo importante para recuperação e adaptação dos indivíduos, não acarretando muitos danos ao DNA, mas observa-se que há micronúcleos em maior quantidade na segunda coleta apesar do intervalo entre os exercícios físicos.

Há também uma diferença entre a quantidade de micronúcleos encontrado em machos e fêmeas. Esta última tem mais micronúcleos que os machos no grupo agudo, enquanto no agudo prolongado os machos apresentam mais que as fêmeas.

Conforme os gráficos, abaixo, observa-se a quantidade de micronúcleos encontrado em cada indivíduo, média e o desvio padrão de cada grupo.

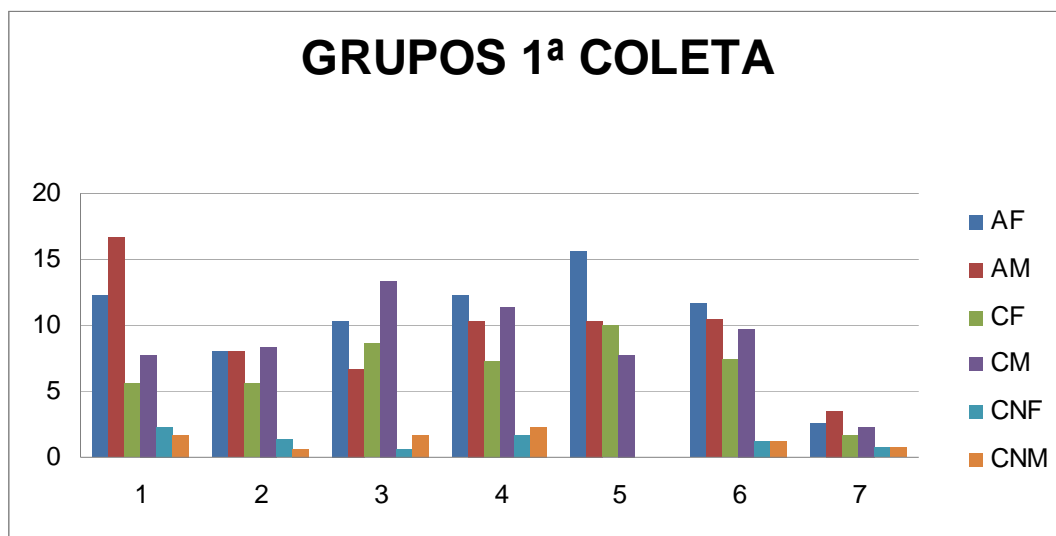


Figura 1 – Média e o Desvio Padrão da primeira coleta

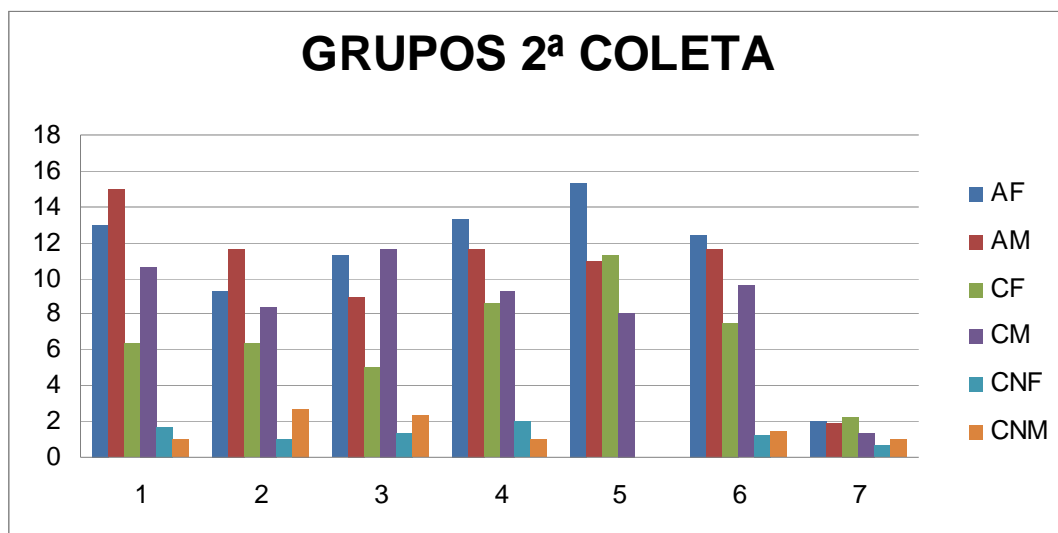


Figura 2 – Média e o Desvio Padrão da segunda coleta

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que os animais que realizaram atividade intensa e sem intervalos foram comprometidos pelo estresse oxidativo e conseqüentemente o surgimento de ERO que podem contribuir para danos tissulares e celulares e prejudicar o desempenho do indivíduo enquanto atleta.

Já os indivíduos de exercício agudo prolongado tiveram menor dano, entende-se então que teve menor estresse oxidativo e pouca produção de ERO.

6. REFERÊNCIAS

- ASHBY, J.. Druckrey's definition of 'genotoxic'. Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 329 (1995) 225. Series: Current Issues in Mutagenesis and Carcinogenesis, No. 57, 2005.
- BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.. ESTRESSE OXIDATIVO: RELAÇÃO ENTRE GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DEFESA DO ORGANISMO. *Quim. Nova*, Vol. 29, No. 1, 113-123, 2006.
- FAGUNDES, Flávio A. ; OLIVEIRA, Leonardo B. de ; CUNHA, Luiz C. ; VALADARES Marize C.. ANNONA CORIACEA INDUZ EFEITO GENOTÓXICO EM CAMUNDONGOS. *Revista Eletrônica de Farmácia* Vol 2 (1), 24-29, 2005.
- FÍSICO: MECANISMOS DE REGULAÇÃO. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*-0037, 1980.
- GARCÍA, José Antonio Villegas. EFEITOS DOS ANTIOXIDANTES FENÓLICOS NA PRÁTICA DESPORTIVA. *The Effect of Phenolic Antioxidant in High Performance Sports*, 2000.
- MORON, S. E.; POLEZ, V. L. P.; ARTINI, R. F.; RIBA, J. L. C.; TAKAHASH, H. K.. Estudo de Alterações na Concentração dos Íons Plasmáticos e da Indução de Micronúcleos em *Piaractus mesopotamicus* Exposto ao Herbicida Atrazina. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 1, n. 1, 27-30, 2006.
- NETO, Jorge Xavier de Almeida; MEDEIROS, Filipe Patrício de Melo e; MELO, Anaxímenes José Marques de; SILVA, José Cavalcanti da; DANTAS, José Pires.. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira

(Opuntia fícus-indica Mill) através do Teste de Micronúcleos em medula óssea de ratos (Rattus novergicus, linhagem Wistar) IN VIVO. Revista de Biologia e Ciências da Terra. Volume 5-nº2-2º semestre, 2005.

OH-ISHI, Shuji; KIZAKI, Takako; OOKAWARA, Tomomi; SAKURAI, Tomonobu; IZAWA, Tetsuya; NAGATA, Naokazu; OHNO, Hideki. Endurance Training Improves the Resistance of Rat Diaphragm to Exercise-induced Oxidative Stress. Am. J. Respir. Crit. Care Med., Volume 156, Number 5, November, 1997.

SILVA, Adriano Eduardo Lima; ADAMI, Fernando; NAKAMURA, Fábio Yuzo; OLIVEIRA, Fernando Roberto de; GEVAERD, Monique da Silva. METABOLISMO DE GORDURA DURANTE O EXERCÍCIO

SILVA, Kelly Elizeu da; GOMES, Ricardo José; HERMANI, Helton André; AZEVEDO, José Roberto Moreira de; CARNEIRO, Everardo Magalhães; LUCIANO, Eliete. Perfil metabólico de ratos diabéticos submetidos ao exercício físico. Motriz, Rio Claro, v.10, n.3, p.189-193, set./dez. 2004.

SOUZA, Carine Ferreira de; FERNANDES, Luiz Cláudio; CYRINO, Edilson Serpeloni. PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO DURANTE O EXERCÍCIO AERÓBIO E ANAERÓBIO. Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano, 1980.

ZOPPI, Cláudio César. MECANISMOS MOLECULARES SINALIZADORES DA ADAPTAÇÃO AO TREINAMENTO FÍSICO. Rev. Saúde. Com 2005; 1(1): 60-70.