

# INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO INTENSO SOBRE A ATIVIDADE SÉRICA, SALIVAR E URINÁRIA DA ALDOLASE

Eduardo Ottobelle Chielle<sup>1</sup>

Roberta Scaramussa Cogo<sup>2</sup>

Jorlana Stake Maziero<sup>3</sup>

## RESUMO

A lesão muscular esquelética é um evento frequente. O diagnóstico utilizando os marcadores sanguíneos clássicos às vezes produz resultados insatisfatórios em razão da grande variabilidade interindividual. Portanto, a identificação de biomarcadores confiáveis e agudos é importante. O objetivo neste trabalho foi verificar a atividade plasmática, salivar e urinária da aldolase em resposta ao dano muscular agudo induzido por exercício físico intenso. Realizou-se um estudo transversal com 27 jogadores de futebol americano com idade média de 22,5 anos. Antes dos exercícios físicos intensos (T0), 60 minutos (T1) e 24 horas (T2) após o treinamento físico intenso, foram determinados os parâmetros clínicos e a determinação da atividade da Aldolase em amostras de soro, saliva e urina. A aldolase sérica foi significativamente maior no T1 e T2, enquanto a atividade salivar foi significativamente maior no T1, com redução significativa em T2; na urina não houve diferenças significativas quando comparado o antes e o depois do exercício físico intenso. Os resultados permitem sugerir que a atividade sérica e salivar da aldolase são biomarcadores interessantes que permitem um monitoramento agudo de lesão muscular; destaca-se a atividade salivar da aldolase, uma vez que esta é uma amostra de fácil coleta e processamento simples e que poderia ser introduzida como dosagens rotineiras e seriadas após exercícios físicos para monitorar atletas, evitando lesões mais graves e contribuindo para o seu desempenho.

Palavras-chave: Lesão muscular. Exercício físico. Saliva. Biomarcadores. Atletas.

## 1 INTRODUÇÃO

O treinamento físico visa à manutenção da performance esportiva do atleta, em especial durante os períodos competitivos; para isso, a plasticidade do tecido muscular esquelético permite sua adaptação a vários estados de demandas funcionais, permitindo ao músculo uma adaptação ao aumento dos treinamentos (COYLE, 1990). Algumas circunstâncias excessivas de treinamentos e poucos intervalos de recuperação induzem uma diminuição dos processos adaptativos de caráter mecânico, metabólico e eletrofisiológico, resultando em lesões musculares. A fadiga muscular é uma dessas alterações, que ocasiona uma incapacidade de manter o torque, sendo um importante fator limitante na performance dos atletas (MUJICA; PADILLA, 2000).

Os atletas profissionais geralmente participam de campeonatos intensivos intercalando jogos e treinamentos intensos durante semanas. Esse quadro pode levar o atleta a uma elevada sobrecarga muscular, redução do desempenho e alteração das respostas inflamatórias (SPIRIDIS et al., 2008; FATOUROS et al., 2010). O exercício físico intenso pode desencadear ação muscular nociva, levando a microlesões ou dano no músculo esquelético (CLARKSON; HUBBARD, 2002) que, dependendo da intensidade e duração da atividade, causam aumento da permeabilidade da membrana plasmática, culminando em extravasamento de enzimas citoplasmáticas para a corrente sanguínea (BRANCACCIO et al., 2008).

<sup>1</sup> Professor Doutor do Departamento de Ciências da Vida na Universidade do Oeste de Santa Catarina de São Miguel do Oeste; eduardochielle@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Graduanda do Curso de Farmácia – Departamento de Ciências da Vida – Universidade do Oeste de Santa Catarina de São Miguel do Oeste; ro.lovatocogo@hotmail.com

<sup>3</sup> Graduanda do Curso de Farmácia – Departamento de Ciências da Vida – Universidade do Oeste de Santa Catarina de São Miguel do Oeste; mazierojorlana2013@gmail.com

A mensuração de variáveis indicativas de fadiga no esporte tem sido fortemente investigada, entre elas os níveis séricos plasmáticos de enzimas musculares podem ser utilizados como indicadores do estado de lesão e/ou do prejuízo do tecido muscular após períodos de treinamento, ou indicadores de intensidades de exercício (MEULEN VAN DER; KUIPERS; DRUKKER, 1991).

A atividade da enzima aldolase sanguínea fornece um indicativo sobre o grau da lesão muscular. O exercício físico intenso/prolongado pode aumentar temporariamente a taxa plasmática da enzima, e desse modo, o monitoramento dos valores dessa enzima após exercício pode dar indicações sobre o grau de agressão e tempo de recuperação após esforços físicos intensos (MUJICA; PADILLA, 2000).

A aldolase é uma enzima glicolítica localizada no citoplasma e no núcleo da célula. A sua isoforma é denominada frutose-1,6-bisfosfato ou aldolase A e se liga aos filamentos de actina contidos no citoesqueleto, sendo caracterizada como específica do tecido muscular. A função dessa enzima é converter o açúcar em energia, catalisando uma importante reação bioquímica na glicólise que promove a transformação da frutose 1,6-bisfosfato em gliceraldeído 3-fosfato e dihidroxiacetona-fosfato na via metabólica de Embden-Meyerhof (FOSCHINI; PRESTES; CHARRO, 2007).

Diante da crescente preocupação com os atletas, especialmente com um diagnóstico e acompanhamento preciso de lesões ou fadigas musculares, a pesquisa de biomarcadores que indiquem com precisão e precocidade da lesão/fadiga da musculatura esquelética é de grande importância para a área médica esportiva. Desse modo, a avaliação da aldolase sérica e em outras amostras biológicas não invasivas como a saliva e urina pode ser fundamental para o diagnóstico e monitoramento dessas lesões musculares, evitando lesões mais graves nos atletas e melhorando sua performance, pois o monitoramento bioquímico atual é relativamente inespecífico e envolve algum desconforto físico e psicológico.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 PARTICIPANTES

Foram incluídos neste estudo 27 atletas do sexo masculino de uma equipe de futebol americano da Cidade de São Miguel do Oeste, SC. O processo de amostragem foi realizado por conveniência, e todos os atletas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e pesquisa com seres humanos da Universidade do Oeste de Santa Catarina sob o protocolo n. 56799416.4.0000.5367. Para a composição da amostra foram adotados como critérios de inclusão: atletas com pelo menos dois anos de treinamento sistematizado; atletas que treinam no mínimo quatro vezes por semana; e atletas com idade igual ou superior a 19 anos e menor ou igual a 30 anos. Os critérios de exclusão: histórico recente (mínimo de seis meses) de lesões musculares; procedimentos cirúrgicos nos joelhos (mínimo de um ano) ou com processos inflamatórios; Doença de Raynaud; atletas com menos de 19 ou mais de 30 anos.

### 2.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

#### 2.2.1 Avaliação dos atletas

Os atletas foram submetidos a um questionário antes da realização da atividade física, pelo qual foram coletadas informações a respeito de idade, peso, altura, tempo de atividade física e pressão arterial sistólica e diastólica. A pressão arterial dos atletas foi aferida antes e após a atividade física utilizando esfigmomanômetro manual e estetoscópio da marca *Premium*. A estatura dos atletas foi mensurada em centímetros (cm), em estadiômetro de parede, *Professional ES2020 Sanny®*, e o peso foi verificado em quilos (kg), em balança marca G- techC, modelo Glass 180, tipo plataforma.

#### 2.2.2 Treinamento físico

Para a realização do treinamento físico os atletas foram orientados a ficar um período de três dias em descanso. Inicialmente os atletas foram submetidos a um aquecimento de dois minutos em bicicleta ergométrica e, posterior-

mente, a um treinamento físico intenso. O grupo de atletas foi submetido a uma sequência de exercícios de dinâmica e com picos de intensidade sob a supervisão dos pesquisadores. No treinamento físico constaram os seguintes exercícios: degrau, flexão de braço em bosu, avanço e rosca direta com dumbbell (10 kg), desenvolvimento com barras e alteres (10 kg), tríceps francês com anilha (15 kg), swing com kettlebell (12 kg), burpee, agachamento isométrico, arremesso de medicine ball (5 kg), tríceps banco e corrida velocidade. Durante a realização dos exercícios os atletas não tiveram descanso, sendo a recuperação ativa. Essa sequência de exercícios foi repetida durante 60 minutos.

### 2.2.3 Coleta de material biológico

Foram coletadas amostras de sangue, saliva e urina em três momentos, antes da realização dos exercícios com o atleta descansado ( $T_0$ ), 60 minutos após a bateria de exercícios físicos ( $T_1$ ) e 24 horas após a bateria de exercícios físicos ( $T_2$ ).

#### 2.2.3.1 Amostras de sangue

As amostras de sangue foram coletadas por punção venosa e colocadas em tubos de coleta com anticoagulante EDTA e em tudo seco sem anticoagulante e com gel separador que foi deixado à temperatura ambiente por 20 minutos e, posteriormente, centrifugado por 10 minutos a 4000 rpm para a obtenção do soro.

#### 2.2.3.2 Amostras de saliva

Os indivíduos foram orientados a enxaguar a boca três vezes com água; posteriormente foi fornecido um Salivette®, que consiste em um recipiente cônico com filtro absorvente. Os participantes foram instruídos a remover o filtro e colocá-lo na boca por um período de três minutos, conforme recomendação do fabricante (Salivette tubos Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha). Na sequência o filtro foi recolocado no recipiente para centrifugação. As amostras foram congeladas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , conforme recomendam Sereg et al. (2011), até o momento das análises.

#### 2.2.3.3 Amostras de urina

Aproximadamente 50 mL de urina foram coletados em frasco estéril. Os atletas foram orientados a desprezar o primeiro jato urinário e coletar o jato médio diretamente no frasco fornecido. As amostras foram centrifugadas para remoção de células, bactérias e cristais, e o sobrenadante foi utilizado para as análises laboratoriais.

### 2.2.3 Análises laboratoriais

A atividade da aldolase foi determinada em amostras de soro, saliva e urina pelo Kit comercial Aldolase Activity Assay kit-colorimetrie (Abcamdiscover more-EUA), um ensaio simples e de rendimento elevado para a medição da atividade da aldolase e foi determinada medindo um produto colorimétrico com absorvância a 450 nm (A450) proporcional à atividade enzimática presente. Uma unidade de aldolase é a quantidade de enzima que gera 1,0 mmole de NADH por minuto a pH 7,2 a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os valores foram expressos em U/L.

## 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para examinar a distribuição de variáveis. Comparações de dados de base entre os grupos foram realizadas por meio da análise de variância *one-way* (ANOVA *one-way*), seguida pelo teste de Tukey (variáveis paramétricas) ou teste de Kruskal-Wallis, e pelo teste de Dunn (variáveis não paramétricas). Os coeficientes de correla-

ção de Spearman foram calculados para descrever as associações entre as variáveis. O valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Os dados foram analisados utilizando o software Statistica 6.0® (StatSoft, Tulsa, EUA).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

A população do estudo foi composta por 27 voluntários do sexo masculino, com idade média de  $22.5 \pm 4.2$ , peso médio de  $81.9 \pm 13.8$ , altura média de  $1.79 \pm 0.6$  e tempo de atividade física com média de  $4.0 \pm 2.6$ . A pressão arterial dos voluntários não apresentou diferença durante os três momentos (T0, T1 e T2), conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Características básicas da população estudada

		T0	T1	T2
N	27			
Gênero	Masculino			
Idade (anos)	$22.5 \pm 4.2$			
Tempo de atividade (anos)	$4.0 \pm 2.6$			
Peso (kg)	$81.9 \pm 13.8$			
Altura (m)	$1.79 \pm 0.6$			
PA sistólica (mmHg)		$127 \pm 11$	$120 \pm 9$	$123 \pm 13$
PA diastólica (mmHg)		$79 \pm 10$	$76 \pm 8$	$76 \pm 9$

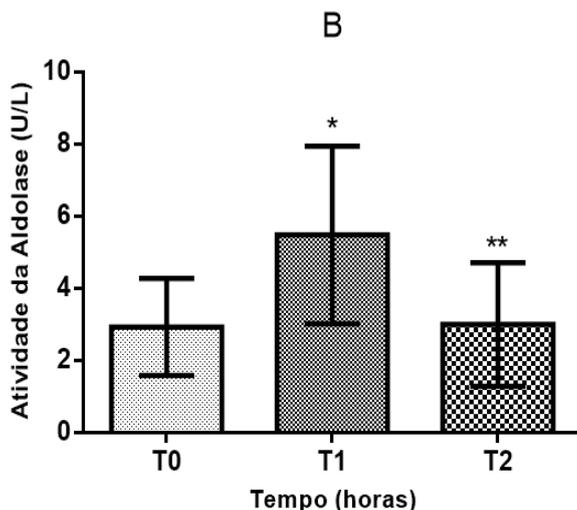
Fonte: os autores.

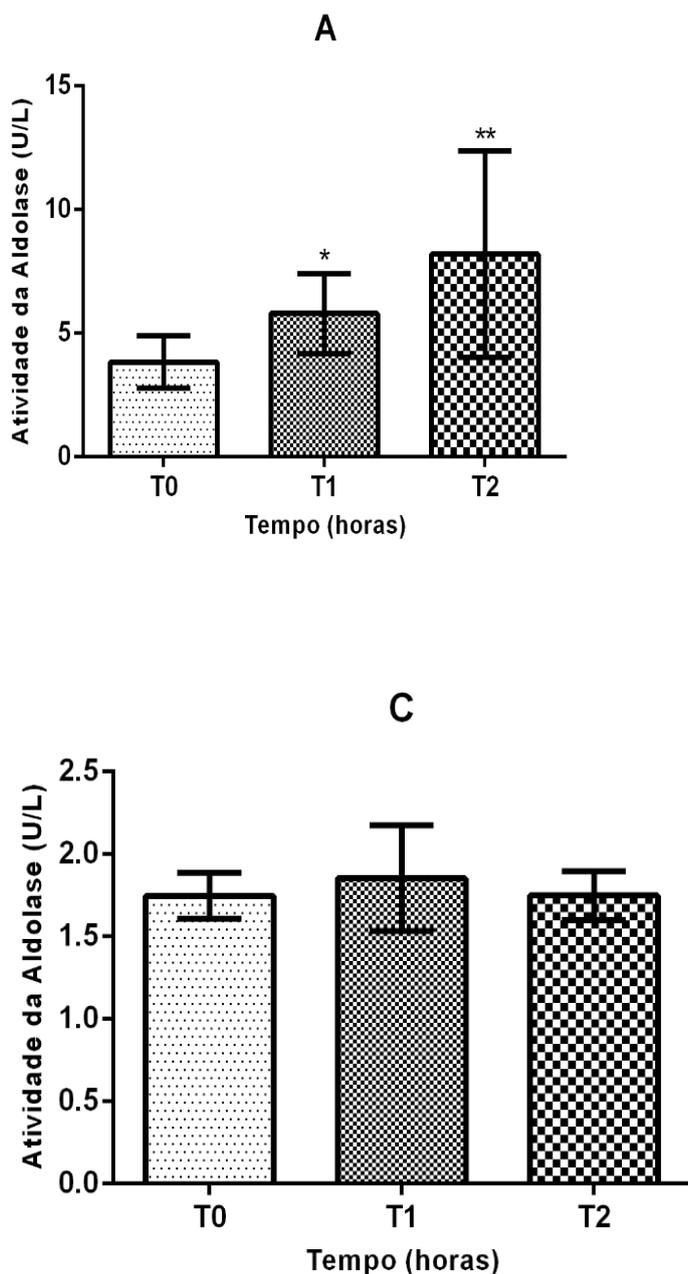
Nota: Os dados foram expressos em média e desvio padrão. T<sub>0</sub>: antes da realização dos exercícios; T<sub>1</sub>: 60 minutos após os exercícios físicos; T<sub>2</sub>: 24 horas após os exercícios físicos; PA: Pressão Arterial.

#### 3.2 ANÁLISES LABORATORIAIS

Observou-se um aumento significativo da atividade da aldolase no soro em T1 ( $p < 0.001$ ) e T2 ( $p < 0.001$ ) quando comparado com T0, assim como um aumento significativo no T2 quando comparado com T1 ( $p < 0.001$ ). Na saliva observou-se um aumento significativo da atividade de aldolase no T1 ( $p < 0.001$ ) quando comparado com T0, seguida de uma diminuição significativa no T2 quando comparado com T1 ( $p < 0.001$ ), expressando uma atividade 24 horas após o exercício intenso muito próxima à atividade da enzima em descanso. Não houve alterações significativas na atividade da aldolase na urina.

Figura 1 – Atividade da aldolase





Fonte: os autores.

Nota: (A) Atividade da adolase no soro; (B) Atividade da aldolase na saliva; (C) Atividade da aldolase na urina. Os dados são expressos como médias  $\pm$  SD ou mediana. Os dados foram processados por análise de variância (*One-way* – ANOVA), seguida pelo teste de Tukey ou teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn. T<sub>0</sub>: antes da realização dos exercícios; T<sub>1</sub>: 60 minutos após os exercícios físicos; T<sub>2</sub>: 24 horas após os exercícios físicos.

#### 4 DISCUSSÕES

As contrações geram tensões na fibra muscular, podendo levar a microrrupturas no sarcolema e lamina basal, as quais constituem a lesão muscular. A fase excêntrica, se comparada à concêntrica, proporciona maior quantidade de microlesões musculares e é também nesse tipo de contração que a formação de radicais livres é maior (LISBÔA, 2010). Cruzat (2007) acrescenta ainda que o dano muscular em exercícios excêntricos é decorrente da ruptura de tecidos conectivos ligados a miofibrilas adjacentes, podendo ser componentes da célula muscular, da lâmina basal adjacente, da membrana plasmática muscular, do sarcômero, do retículo plasmático, ou ainda de uma combinação desses. Para o diagnóstico precoce de dano muscular os marcadores bioquímicos são amplamente utilizados, pois permitem um rastreamento generalizado do organismo, sendo a área desportiva a mais evidenciada (LISBÔA, 2010; ASSUMPÇÃO et al., 2013).

Um biomarcador utilizado para diagnóstico de lesões musculares é a aldolase, pois é uma enzima que apresenta variações pré e pós-exercício, sobretudo após o exercício de força ou outros que exijam ações excêntricas (FOSCHINI; PRESTES; CHARRO, 2007; OLIVEIRA, 2011). Este estudo demonstrou a atividade individual da aldolase antes e após a realização de exercícios físicos intensos em amostras biológicas diferentes, objetivando representar a magnitude de estresse muscular pós-exercício físico. Observou-se que a atividade da aldolase sérica e salivar aumentaram significativamente 60 minutos após atividade física intensa; ressalta-se também que em nível sérico a atividade dessa enzima permaneceu aumentada após 24 horas do término do exercício, enquanto na saliva a atividade dessa enzima diminuiu significativamente após 24 horas (Figuras 1A, 1B e 1C).

Essa enzima age de forma a clivar, reversivelmente, a Frutose 1,6-bifosfato em gliceraldeído-3-fosfato e diidroxicetona fosfato para posteriormente fornecer maior quantidade de ATP para as células musculares (ERLANDSEN; ABOLA; STEVENS, 2000). É certo que durante a mudança de um estado de repouso para uma situação de exercício existe um aumento no consumo de ATP e, conseqüentemente, um aumento na geração de seus produtos (ADP, AMP e Fosfato inorgânico). Em decorrência da habilidade de responder a mudanças nessas concentrações, ela é considerada, junto a outras enzimas, como a glicogênio fosforilase e a lactato desidrogenase, enzima-chave na regulação do fluxo de produção de energia pela via glicolítica (SELIVANOV et al., 2008).

Desse modo, a atividade da enzima aldolase torna-se uma importante ferramenta para monitorar atletas, especialmente de alta performance e que apresentam uma grande carga de treinamentos exaustivos. Pode-se verificar com os resultados apresentados que a saliva, assim como o soro, é uma amostra promissora para análise da atividade da aldolase e conseqüente monitoração de lesões musculares. Esse fator é um destaque deste trabalho, uma vez que a saliva é uma amostra biológica de fácil recolha e não invasiva diminui o desconforto e a ansiedade dos pacientes, não coagula, não precisa de anticoagulantes, além de ser prática e fácil para coletas de monitoramento seriado (CHIELLE et al., 2015). Por outro lado, a atividade da aldolase urinária não se mostrou uma boa ferramenta para monitoração, uma vez que os valores nessa amostra permaneceram constantes antes e após os exercícios físicos.

Ressalta-se que a aldolase sérica e salivar é um biomarcador importante que permite a detecção de lesões musculares em atletas submetidos a exercício físico. O exercício físico intenso/prolongado pode aumentar temporariamente a taxa plasmática da aldolase, assim o monitoramento dos seus valores séricos pode dar indicações sobre o grau de agressão e tempo de recuperação após o exercício físico (SANTOS, 2001, 2004). Segundo Haralanbie (1981), sujeitos destreinados para uma atividade física extenuante têm aumento da aldolase sérica que regressa ao normal dentro de 75 minutos. Indivíduos integrados em planos de treinamento sistemático e prolongados podem representar valores basais de aldolase duas a quatro vezes maiores que indivíduos sedentários. A aldolase também pode ser utilizada para se verificar o status de adaptação muscular ao treinamento.

Santos (2004) verificou que após uma corrida de 50 km, sujeitos treinados atingiam pico máximo de concentração sérica de aldolase 24 horas depois, enquanto os sujeitos não treinados, ou menos treinados, somente atingiam esse pico em 48 horas após a corrida. Porém, sujeitos treinados apresentavam, logo após o esforço, níveis significativamente superiores aos basais, enquanto para indivíduos não treinados os valores após o esforço eram idênticos aos valores de partida. Isso significa que o tempo de extravasamento celular dessa enzima para o sangue não é idêntico em todos os sujeitos.

## 5 CONCLUSÃO

Neste estudo avaliou-se a atividade sérica, salivar e urinária da aldolase em atletas antes e após exercício físico intenso e verificou-se que essas determinações da aldolase sérica e salivar podem permitir uma análise das alterações bioquímicas celulares, permitindo um melhor conhecimento das alterações anatomopatológicas musculares que ocorrem após exercícios físicos intensos, sugerindo que essa enzima no soro, mas especialmente na saliva, pode ser um biomarcador promissor de exaustão muscular aguda e crônica.

A aldolase pode ser dosada em amostras não invasivas e em momentos diferentes, porque, como os resultados referem, alguns biomarcadores aumentam até 24 horas após exercício físico intenso, servindo para o diagnóstico e monitoramento de possíveis lesões musculares, evitando lesões mais graves em atletas e contribuindo para um melhor desempenho. Assim, os treinadores e atletas poderão organizar uma rotina de treino que permita ao atleta uma melhor

adaptação metabólica e muscular e um aprimoramento do gasto energético, bem como a remoção de metabolitos desnecessários para o corpo, sem causar tanto dano ao corpo do atleta.

### ***Influence of the intense physical exercise on serum, salivary and urinary activity of andolase***

#### ***Abstract***

*Skeletal muscle injury is a frequent event. The diagnosis using the classic blood markers sometimes produces unsatisfactory results due to the great interindividual variability. Therefore, the identification of reliable and acute biomarkers is important. Our objective was to verify the plasma, salivary and urinary aldolase activity in response to acute muscle damage induced by intense physical exercise. A cross-sectional study was carried out with 27 football players with a mean age of 22.5 years. Before the intense physical exercises (T0), 60 minutes (T1) and 24 hours (T2) after intense physical training, clinical parameters and determination of Aldolase activity in serum, saliva and urine samples were determined. Serum aldolase was significantly higher in T1 and T2, whereas salivary activity was significantly higher in T1, with significant reduction in T2; in urine there were no significant differences when compared to before and after intense physical exercise. The results suggest that aldolase serum and salivary activity are interesting biomarkers that allow an acute monitoring of muscle injury, salivary activity of aldolase is highlighted, since this sample is easy to collect and simple processing and that Could be introduced as routine and serial dosages after physical exercise to monitor athletes avoiding more serious injuries and contributing to their performance.*

*Keywords: Muscle injury. Exercise. Saliva. Biomarkers. Athletes.*

## **REFERÊNCIAS**

ASSUMPÇÃO, C. et al. Exercise-induced muscle damage and running economy in humans. **The Scientific World Journal**, 2013.

BRANCACCIO, P. et al. Serum Enzyme monitoring in sports medicine. **Clinics in Sports Medicine**, v. 27, i. 1, p. 1-18, 2008.

CHIELLE, E. O. et al. Adenosine deaminase, dipeptidyl peptidase-IV activities and lipidperoxidation are increased in the saliva of obese Young adult. **Clin Chem Lab Med.**, v. 53, i. 7, p. 1041-1047, Jun. 2015.

CLARKSON, P. M.; HUBAL, M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. **American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 81, n. 11 (Suppl), p. S52-269, 2002.

COYLE, E. F. Detraining and retention of training-induced adaptations. **Medicine Science and Sports Exercises**, v. 2, p. 1-5, 1990.

CRUZAT, V. F. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n. 5, p. 234-85, 2007.

ERLANDSEN, H.; ABOLA, E. E.; STEVENS, R. C. Combining structural genomics and enzymology: completing the picture in metabolic pathways and enzyme active sites. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 10, i. 6, p. 719-30, 2000.

FATOUROS, I. G. et al. Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. **Journal of Strength And Conditioning Research**, v. 24, i. 12, p. 3278-3286, 2010.

FOSCHINI, D.; PRESTES, J.; CHARRO, M. A. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 9, n. 1, p. 101-106, 2007.

HARALANBIE, G. Serum aldolase isoenzymes in athletes at rest and after long lasting exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 2, i. 1, p. 31-36, 1981.

ISPIRLIDIS, I. et al. Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. **Clinical Journal Sport Medicine**, v. 18, i. 5, p. 423-431, 2008.

LISBÔA, L. M. **Marcadores Bioquímicos na avaliação da lesão muscular associados ao treinamento físico.** 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)– Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MEULEN VAN DER, J. H.; KUIPERS, H.; DRUKKER J. Relationship between exercise-induced muscle damage and enzyme release in rats. **The American Physiological Society**, v. 161, p. 999-1004, 1991.

MUJICA, I.; PADILLA, S. Muscular characteristics of the training in humans. **Medicine Science and Sports Exercises**, v. 33, p. 1297-303, 2000.

OLIVEIRA A. **Cinética de aparecimento e remoção de biomarcadores de lesão muscular, inflamação e estresse oxidativo após exercício combinado de alta intensidade.** Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica)–Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2011.

SANTOS, J. A. R. dos. Alterações agudas induzidas por uma corrida de 50 km em alguns parâmetros hematológicos, bioquímicos e urinários em sujeitos com diferentes níveis de treino. **Revista Portuguesa de Medicina Desportiva**, v. 22, p. 11-22, 2004.

SANTOS, J. A. R. dos. Avaliação do Processo de recuperação de alguns indicadores hematológicos 3 dias após a conclusão de uma maratona de 100 km. **Revista Portuguesa de Medicina Desportiva**, v. 19, p. 83-94, 2001.

SELIVANOV V. A. et al. The role of external and matrix pH in mitochondrial reactive oxygen species generation. **Journal of Biology and Chemical**, v. 283, p. 29292–29300, 2008.

SEREG, M. et al. Diagnostic performance of salivary cortisol and serum osteocalcin measurements in patients with overt and subclinical Cushing's syndrome. **Steroids**, v. 76, p. 38-42, 2011.