UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

Efeito da deficiência dietética de magnésio no
metabolismo oxidativo de tecidos de ratos submetidos a
protocolo de treinamento periodizado

Aline Guimarães Amorim

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Julio Tirapegui

São Paulo
2007

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Relatório de Defesa

Relatório de defesa pública de Tese do(a) Senhor(a) Aline Guimarães Amorim no Programa: Ciência dos Alimentos, do(a) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Aos 20 dias do mês de agosto de 2007, realizou-se a Defesa da Tese do(a) Senhor(a) Aline Guimarães Amorim, apresentada para a obtenção do título de Doutor em Ciência dos Alimentos - Área: Nutrição Experimental, intitulada:

"Efeito da deficiência dietética de magnésio no metabolismo oxidativo de tecidos de ratos submetidos a protocolo de treinamento periodizado"

Após declarada aberta a sessão, o(a) Sr(a) Presidente passa a palavra aos examinadores para as devidas arguições que se desenvolvem nos termos regimentais. Em seguida, a Comissão Julgadora proclama o resultado:

Nome dos Participantes da Banca	Vínculo do Docente	Sigla da Unidade	Resultado
Julio Orlando Tirapegui Toledo	Presidente	FCF - USP	APROVADA
Sandra Maria Lima Ribeiro	Titular	EACH - USP	APROVADA
Paulo de Aguiar Prouvot	Titular	Docente Externo	APROVADA
Patrícia Helen de Carvalho Rondo	Titular	FSP - USP	APROVADA
Jorge Mancini Filho	Suplente	FCF - USP	APROVADA
Resultado Final: APROVADA POR UNANIMIDADE			
Parecer da Comissão Julgadora *			

Comentários da Defesa (opcional)

Eu, Monica Dealis Perussi, Secretária, lavrei a presente ata, que assino juntamente com os(as) Senhores(as). São Paulo, aos 20 dias do mês de agosto de 2007.

Sandra Maria Lima Ribeiro

Paulo de Aguiar Prouvot

Patrícia Helen de Carvalho Rondo

Jorge Mancini Filho

Julio Orlando Tirapegui Toledo

Orientador(a)

* Obs: Se o candidato for reprovado por algum dos membros, o preenchimento do parecer é obrigatório.

Nos termos do artigo 110, do RG-USP, encaminhe-se o presente relatório à CPG, para homologação.

Impresso em: 20/08/2007

Para o Professor Julio Orlando Tirapegui
Toledo, pela confiança e apoio mesmo nos
momentos difíceis. Serei eternamente grata.

Para meus pais, Gabriel Azevedo Amorim
(*In memoriam*) e Maria do Pêrpétuo do Socorro
Guimarães, e meus irmãos, Daniela Guimarães
Amorim e Dário Gabriel Gomes Amorim, por
todo carinho, força e paciência.

Para Charles Augusto Moreira Fernandes,
por me acompanhar na nesta empreitada.

Eu sei que a verdade ainda habita minha alma
E a alma que é da verdade é como a raiz que é da terra...
Na verdade o que subsiste é o forte que luta
O fraco que foge é a lama que corre do monte para o vale...
Eu tenho esperanças, Senhor.
Tenho esperanças no meu espírito extraordinário
E tenho esperança na minha alma extraordinária

(Vinícius de Moraes)

AGRADECIMENTOS

- À CAPES pela bolsa concedida.
- Um agradecimento especial à Elma Regina Andrade Wartha, por ter me mostrado as metodologias de determinação de atividade de enzimas antioxidantes e de concentração de TBARS. Também não posso me esquecer do seu apoio como representante discente. Obrigada por tudo, sem sua ajuda eu não estaria apresentando esta tese.
- À técnica de laboratório Ivanir Pires. Não há como deixar de falar de sua dedicação, seu carinho e amizade.
- Ao Marcos Angelo Almeida Demasi, pesquisador do Instituto de Química, por toda a atenção e gentileza na permissão da utilização da ultracentrífuga do laboratório da Profa Dra. Maria Cleide Sogayar.
- À todos no Biotério de Experimentação do Instituto de Química, na Secretaria do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, na Secretaria de Curso de Pós-graduação e aos funcionários e colegas de departamento. Obrigada por tudo.
- Aos colegas de laboratório: José Donato Júnior, Luciana Rossi, Renata Mendes, Francisco Leonardo Torres Real, Daiana Vianna, Gabriela Teodoro, Michele Trindade, Camila Maria de Melo, Silvia Rocca, Maria Carolina Borges, Eder Petry e Vinicius Fernandes Cruzat. Mesmo que tardiamente, descobri com vocês o prazer na pesquisa científica.
- À Rogério Graça Pedrosa e Marcelo Macedo Rogero, pela ajuda na elaboração deste projeto e pela amizade.

- Aos colegas de pós Claudia Passos Guimarães, Alessandro de Lima e Ana Mara, pelo apoio e pela amizade.
- Aos amigos e colegas de profissão de Fortaleza: Verlaine Suênia Silva Souza, Marta da Rocha Moreira, Fernando César Rodrigues Brito, Adriana Cesar e Ariclécio Cunha de Oliveira.
- À minha amiga Aneilde Maria Ribeiro de Brito, pelo apoio incondicional e sabedoria.
- Aos amigos Tatyana de Paula, Vitor Hugo Pereira Gonçalves, Elza Mara Curto, Renato Mancini, Roberto Brito, Camilla Fecchio e Lucas Pantaleão.
- Não posso deixar de agradecer a todos com quem convivi no laboratório da Profa. Dra. Célia Colli. Obrigada, foi uma verdadeira lição de vida.
- A todos que direta e indiretamente ajudaram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABELAS	xii
ÍNDICE DE QUADROS	xii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA	3
3. OBJETIVOS	5
4. REVISÃO DE LITERATURA	6
4.1. Produção de radicais livres no exercício físico	6
4.2. Fontes de RL no exercício físico	8
4.3. Os mecanismos de defesa antioxidantes no exercício físico	13
4.4. Dano muscular e exercício físico	18
4.5. Magnésio	20
4.5.1. Distribuição de magnésio no organismo	21
4.5.2. Absorção e excreção de magnésio	23
4.5.3. Parâmetros bioquímicos do estado nutricional relativo ao magnésio	24
4.5.4. Recomendações dietéticas e fontes alimentares de magnésio	25
4.5.5. Ingestão dietética de magnésio em atletas	29
4.5.6. Deficiência de magnésio	30
4.5.7. Toxicidade do magnésio	30
4.6. Magnésio na atividade física	31
4.6.1. Deficiência de Mg e estresse oxidativo no exercício físico	34
5. METODOLOGIA	40
5.1. Animais	40

5.2. Rações experimentais	40
5.3. Desenho experimental	41
5.4. Coleta do material biológico	42
5.5. Obtenção das frações citossólica e mitocondrial do gastrocnêmio e sóleo	43
5.6. Determinações experimentais	44
5.6.1. Creatina quinase (CK)	44
5.6.2. Lactato desidrogenase (LDH)	45
5.6.3. Superóxido dismutase (SOD)	46
5.6.4. Catalase (CAT)	46
5.6.5. Glutathione peroxidase (GPx)	47
5.6.6. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	47
5.6.7. Proteína	48
5.6.8. Magnésio total	49
5.6.9. Magnésio sérico e eritrocitário	49
5.7. Análise Estatística	50
6. RESULTADOS	51
6.1. Parâmetros biométricos	51
6.2. Indicadores de lesão muscular	54
6.3. Atividade de enzimas antioxidantes na musculatura esquelética	55
6.4. Peroxidação lipídica em tecidos dos animais estudados	64
6.5. Parâmetros relativos ao estado nutricional do magnésio	66
7. DISCUSSÃO	70
8. CONCLUSÕES	86
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
10. ANEXOS	111

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Representação da redução unieletrônica (representado por e^-) do O_2 (oxigênio) em $O_2^{\cdot -}$ (radical superóxido).	6
FIGURA 2. Representação esquemática do ciclo das purinas na musculatura esquelética.	11
FIGURA 3. Principais vias metabólicas das ERO e ERN.	17
FIGURA 4. Fluxo de magnésio durante e após atividade física.	33
FIGURA 5. Possíveis mecanismos pelos quais o estresse oxidativo induzido pela deficiência de magnésio prejudica o desempenho físico.	39
FIGURA 6. Desenho experimental.	41
FIGURA 7. Esquema de fracionamento subcelular dos homogenatos de gastrocnêmio e sóleo.	44
FIGURA 8. Atividade da superóxido dismutase (U SOD/mg proteína) na porção citossólica do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais.	55
FIGURA 9. Atividade da superóxido dismutase (U SOD/mg proteína) na porção mitocondrial do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais.	56
FIGURA 10. Atividade da superóxido dismutase (U SOD/mg proteína) na porção citossólica do sóleo de animais dos grupos experimentais.	57
FIGURA 11. Atividade da superóxido dismutase (U SOD/mg proteína) na porção mitocondrial do sóleo de animais dos grupos experimentais.	58
FIGURA 12. Atividade da catalase (UCAT/mg proteína) na porção citossólica do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais.	59
FIGURA 13. Atividade da catalase (UCAT/mg proteína) na porção citossólica do sóleo de animais dos grupos experimentais.	60
FIGURA 14. Atividade da glutathiona peroxidase (UGPx/mg proteína) na porção citossólica do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais.	61
FIGURA 15. Atividade da glutathiona peroxidase (UGPx/mg proteína) na porção mitocondrial do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais.	62
FIGURA 16. Atividade da glutathiona peroxidase (UGPx/mg proteína) na porção citossólica do sóleo de animais dos grupos experimentais.	63
FIGURA 17. Atividade da glutathiona peroxidase (UGPx/mg proteína) na porção mitocondrial do sóleo de animais dos grupos experimentais.	64
FIGURA 18. Concentração de magnésio no soro de animais dos grupos experimentais.	66
FIGURA 19. Concentração de magnésio no eritrócito de animais dos grupos experimentais.	67

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Principais espécies reativas produzidas no exercício físico	7
TABELA 2. Distribuição e concentrações de magnésio em um adulto saudável	22
TABELA 3. Concentração de magnésio total em amostras de alimentos nacionais.	28
TABELA 4. Concentração de magnésio total em amostras de água.	29
TABELA 5. Concentração de magnésio nas rações utilizadas no experimento.	40
TABELA 6. Peso corporal (g) no início e no fim do experimento, ganho de peso e consumo de ração durante o ensaio biológico.	52
TABELA 7. Peso de tecidos (g) de animais dos grupos experimentais.	53
TABELA 8. Atividade da creatina quinase (CK) e da lactato desidrogenase (LDH) no soro dos animais dos grupos experimentais.	54
TABELA 9. Concentração de TBARS ($\mu\text{molMDA/mgproteína}$) no gastrocnêmio, fígado, rim e cérebro dos animais dos grupos experimentais.	65
TABELA 10. Concentração de magnésio total ($\mu\text{g Mg/mg base seca}$) no gastrocnêmio, sóleo, fígado, rim e cérebro dos animais dos grupos experimentais.	69
TABELA 11. Composição das rações do experimento (AIN-93M)	112
TABELA 12. Composição das misturas salinas (g/Kg mistura) para as dietas experimentais (AIN93M).	113

ÍNDICE DE QUADROS

	Página
QUADRO 1 – Protocolo de treinamento	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RL – radicais livres
DNA – ácido desoxirribonucleico
Mg – magnésio
O₂ – oxigênio
O₂^{•-} - radical superóxido
ERO – espécies reativas de oxigênio
ERN – espécies reativas ao nitrogênio
H₂O₂ - peróxido de hidrogênio
NO - óxido nítrico
OH[•] – hidroxil
RO₂[•] – radical peroxil
RO[•] – radical alcóxil
HOCl – Ácido hipocloroso
NO₂[•] – dióxido de nitrogênio
ONOO⁻ - Peroxinitrito
VO_{2máx} - consumo máximo de oxigênio
CTE - cadeia transportadora de elétrons
ATP - trifosfato de adenosina
ADP - difosfato de adenosina
AMP - monofosfato de adenosina
XD - xantina desidrogenase
XO - xantina oxidase
Ca²⁺ - íon cálcio
NADPH – nicotinamida adenosina dinucleotídeo fosfato hidrogenado
MPO – mieloperoxidase
NOS – óxido nítrico sintase
nNOS – óxido nítrico sintase neuronal
eNOS – óxido nítrico sintase endotelial
iNOS – óxido nítrico sintase indutiva
COX - ciclooxigenase

AA – ácido araquidônico
Hb – hemoglobina
Mb – mioglobina
GSH – glutathiona reduzida
SOD – superóxido dismutase
CAT – catalase
GPX – glutathiona peroxidase
GR - glutathiona redutase
Cu/ZnSOD – superóxido dismutase citossólica
MnSOD – superóxido dismutase mitocondrial
GSSG – glutathiona oxidada
IDPm - isocitrato desidrogenase mitocondrial
HSP – *heat shock protein* ou proteína de choque térmico
TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
MDA – malondialdeído
CK - creatina quinase
LDH - lactato desidrogenase
RS - retículo sarcoplasmático
TRPM - melastatina com potencial de receptor transitório
IDR - Ingestões Dietéticas de Referência
EAR - Necessidade Média Estimada
RDA - Recomendação Nutricional
UL – Ingestão Tolerável
NMDA – N-metil-D-aspartato
IL-1 – interleucina 1
IL-6 – interleucina 6
TNF- α - fator de necrose tumoral
NF κ B - fator nuclear *kappa* beta
MAPK - proteína quinase ativada por mitógenos
PLA₂ - Fosfolipase A₂

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo verificar se a ingestão de dieta deficiente em magnésio altera o metabolismo oxidativo de ratos submetidos à atividade física moderada. Ratos Wistar machos (peso inicial 280g) foram divididos em controle (SED, n=9), controle exercitado (EX, n=9), marginalmente deficiente em Mg sedentário (MARG, n=9) e deficiente em Mg exercitado (EXMARG, n=9). A dieta controle apresentava 500 mg Mg/kg de ração e a dieta deficiente em Mg tinha 200 mg Mg/kg de ração. Os animais foram submetidos a 6 semanas de natação, 1 hora/dia, 5 vezes/semana. No soro foi determinada a atividade de creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH). Foi determinada a atividade de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) na musculatura esquelética. No músculo gastrocnêmio, fígado, rins e cérebro foi determinada a peroxidação lipídica (TBARS). A concentração de magnésio foi determinada no eritrócito, soro e músculos gastrocnêmio e sóleo, fígado, rins e cérebro. A atividade de enzimas antioxidantes foi menor no grupo EXMARG ($p < 0,05$), especialmente na fração citossólica. Provavelmente, estes animais ficaram mais suscetíveis a danos oxidativos, mais propensos a realizar com dificuldade o exercício físico proposto, levando o seu esforço próximo à anaerobiose. Entretanto, o grupo EXMARG não apresentou concentrações significativas de TBARS no músculo. O cérebro apresentou maior risco para a ação pró-oxidativa na deficiência de magnésio. O nível de ingestão de magnésio não apresentou o efeito significativo esperado para os parâmetros, exceto no soro ($p < 0,05$). A deficiência marginal de magnésio associada ao treinamento físico regular levou à maior ação pró-oxidativa sobre o organismo, especialmente sobre a musculatura esquelética.

PALAVRAS-CHAVE: exercício físico, magnésio, estresse oxidativo, deficiência dietética, dano muscular.

ABSTRACT

This study aimed to verify if the ingestion of a diet poor in magnesium alters the oxidative metabolism in rats submitted to moderate physical activity. Male Wistar rats (initial body mass of 280 g) were divided into 4 groups: control (CON, n=9), exercised control (CONEX, n=9), deficient in Mg (MARG, n=9), and exercised and deficient in Mg (EXMARG, n=9). The control diet presented 500 mg of Mg/ Kg diet and the deficient diet contained 200 mg of Mg/ Kg diet. The animals were submitted to 6 weeks of swimming exercise, 1 hour/day, 5 time/week. Serum creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) activity was obtained. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activities were determined in skeletal muscles. Lipid peroxidation level (TBARS) was assayed in gastrocnemius and soleus muscles, liver and brain. Magnesium concentration was assayed in erythrocyte, serum, gastrocnemius and soleus muscles, liver, kidney and brain. Antioxidant enzyme activity was smaller on EXMARG group ($p<0,05$), especially in the cytosol. possibly, these animals were more susceptible to oxidative damage, being difficult to execute the exercise, leading their effort near anaerobic level. However, the EXMARG group did not presented significant muscle TBARS concentration. The brain presented increased risk to magnesium deficiency pro-oxidative action. In summary, marginal magnesium deficiency in association with regular physical training led to a greater pro-oxidative action in the organism, specially over skeletal muscle.

KEY-WORDS: physical exercise, magnesium, oxidative stress, dietetic deficiency, muscle damage.

1. INTRODUÇÃO

A prática regular de exercício físico, juntamente com uma dieta balanceada, está associada com vários efeitos positivos para a saúde, como a menor propensão para doenças crônico-degenerativas. Porém, a atividade física exaustiva e/ou intensa pode levar a ocorrência de doenças, lesões e fadiga crônica, em parte devido a toxicidade dos radicais livres (RL) (COOPER *et al.*, 2002).

Atualmente é reconhecido que os RL também exercem efeitos positivos no sistema imunológico e em funções metabólicas essenciais (FINAUD *et al.*, 2006). Se a ação de tais RL será benéfica ou deletéria para o organismo vai depender da atividade dos antioxidantes, que são componentes que suprimem os RL e seus efeitos danosos. O estresse oxidativo acontece quando a ação dos RL supera a atividade dos antioxidantes (POWERS *et al.*, 2004). Uma das principais conseqüências do estresse oxidativo é peroxidação lipídica, além de possíveis danos a proteínas e ao DNA, alterando conseqüentemente a função celular (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004).

Os danos celulares induzidos pelos RL estão envolvidos em diversas patologias, como câncer, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas, bem como em danos causados pelo consumo de álcool e no processo de envelhecimento (ANASTASSOPOULOU & THEOPHANIDES, 2002; CLARKSON & THOMPSON, 2000).

A atividade física aumenta tanto a produção de RL como a utilização de antioxidantes. A alimentação é responsável pelo fornecimento de uma importante parte dos antioxidantes. A deficiência dietética de antioxidantes e outras substâncias essenciais pode causar estresse oxidativo (HALLIWELL, 2006a). Dentre tais substâncias está o magnésio (Mg), mineral que participa do metabolismo energético, da regulação dos transportadores de íons e da contração muscular (WOLF & CITTADINI, 2003).

A deficiência dietética de magnésio é positivamente correlacionada com o aumento da peroxidação lipídica e com a diminuição da atividade

antioxidante (MAK *et al.*, 1997; RAYSSIGUIER *et al.*, 1993a; RAYSSIGUIER *et al.*, 1993b). Entretanto, até o momento, pouco tem sido discutido a respeito do seu efeito sobre o metabolismo oxidativo durante a atividade física. O objetivo da presente trabalho é determinar a relação entre exercício, estresse oxidativo e magnésio.

2. JUSTIFICATIVA

Com a busca por melhor rendimento e/ou ganho de saúde e forma física por atletas ou mesmo por pessoas que praticam atividade física, diversos estudos voltados para a nutrição na atividade física vêm sendo conduzidos no Laboratório de Bioquímica da Nutrição. Quando se estuda um determinado elemento, existem os mais diversos resultados e argumentos por parte dos autores, logo a comparação entre esses estudos se torna difícil em função dos diferentes protocolos utilizados (GOMES & TIRAPEGUI, 2000). Assim, buscou-se elaborar um estudo que fizesse uso de um mesmo protocolo de exercício em animais já aplicado em pesquisas relacionadas com glutamina (ROGERO *et al.*, 2002), restrição alimentar (PEDROSA *et al.*, 2004) e aminoácidos de cadeia ramificada (ARAUJO *et al.*, 2006), só que agora abordando o estresse oxidativo e sua relação com o magnésio, um mineral envolvido no metabolismo energético.

No caso de roedores, as suas necessidades nutricionais estão estabelecidas. O oferecimento de 500 mg Mg/kg de ração é considerado o suficiente (REEVES *et al.*, 1993), mesmo que em alguns trabalhos a ração controle fornecida apresentasse o dobro deste valor (RUDE *et al.*, 2005). Na maior parte dos estudos com animais o nível de deficiência de magnésio chega a apenas 10% do recomendado, sendo então classificada como grave. Este grau de deficiência não reflete o que ocorre em humanos com ingestão de magnésio abaixo do recomendado. Desta forma, buscou-se realizar ensaios biológicos com animais submetidos à deficiência classificada como marginal (FEILLET-COUDRAY *et al.*, 2002; FEILLET-COUDRAY *et al.*, 2006), na qual a ingestão de magnésio não representasse menos que 40% das recomendações.

Além disso, muitas perguntas ainda precisam ser respondidas a respeito do estresse oxidativo induzido pela deficiência de magnésio no exercício físico. Faltam trabalhos que avaliem o real estado nutricional relativo ao magnésio dos indivíduos estudados antes da discussão dos resultados obtidos. Também ainda precisa ser melhor definida a função das

defesas antioxidantes na prática regular de exercício físico e na deficiência de magnésio.

3.OBJETIVOS

3.1.Objetivo geral

- Verificar o efeito da ingestão de dieta marginalmente deficiente em magnésio sobre o metabolismo oxidativo de ratos submetidos a protocolo de exercício físico periodizado.

3.2.Objetivos específicos

- Verificar a existência de relação entre deficiência de magnésio, lesão muscular e peroxidação lipídica no exercício físico;
- Avaliar a influência da deficiência de magnésio sobre a atividade de enzimas antioxidantes em células musculares de animais exercitados;
- Determinar a concentração sérica, eritrocitária e tecidual de magnésio dos animais estudados.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Produção de radicais livres no exercício físico

Os RL são moléculas ou íons que contém um ou mais elétrons desemparelhados, que são capazes de existir livremente. Exibem, portanto, atividade oxidante. São representados por um radical (R) com um ponto, que representa o elétron desemparelhado ($\cdot$ R). Diferem, assim, da maior parte das biomoléculas, cujos elétrons apresentam spins opostos pareados em um mesmo orbital (VALKO *et al.*, 2007).

A molécula de oxigênio (O_2) contém dois elétrons desemparelhados com *spins* paralelos. A redução univalente de oxigênio, um processo de significância biológica para a produção de energia, trata da redução de um elétron por vez (FIGURA 1). Tal processo leva à produção de RL derivados do oxigênio altamente reativos. Tais RL podem reagir com estruturas biológicas e outros componentes, causando danos oxidativos e produzindo outras espécies reativas de oxigênio (ERO) (SEN, 1995).

FIGURA 1. Representação da redução unieletrônica (representado por e^-) do O_2 (oxigênio) em $O_2^{\cdot-}$ (radical superóxido).

No exercício físico, dentre os RL existentes, as ERO e as espécies reativas ao nitrogênio (ERN) são as mais estudadas. Seus principais exemplos são apresentados na TABELA 1. As ERN podem ser formadas por reações com ERO ou podem aumentar a produção das mesmas. Os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico ($NO\cdot$) reagem rapidamente apenas com algumas moléculas, enquanto o hidroxil ($OH\cdot$)

reage rapidamente com qualquer composto. Espécies como os radicais peroxil ($\text{RO}_2^\cdot$), alcóxil ($\text{RO}^\cdot$), ácido hipocloroso (HOCl), dióxido de nitrogênio ($\text{NO}_2^\cdot$) e peroxinitrito ($\text{ONOO}^\cdot$) apresentam reatividade intermediária (HALLIWELL, 2006b).

TABELA 1. Principais espécies reativas produzidas no exercício físico

	Abreviatura
Espécies Reativas de Oxigênio	EROs
Íon Superóxido	$\text{O}_2^{\cdot-}$
Radical Hidroxil	$\text{OH}^\cdot$
Peróxido de Hidrogênio	H_2O_2
Ácido Hipocloroso	HOCl
Radical Alcoxil	$\text{RO}^\cdot$
Radical Peroxil	$\text{ROO}^\cdot$
Radical Hidroperoxil	$\text{ROOH}^\cdot$
Espécies Reativas de Nitrogênio	ERNs
Óxido Nítrico	$\text{NO}^\cdot$
Dióxido Nítrico	$\text{NO}_2^\cdot$
Peroxinitrito	$\text{ONOO}^\cdot$

Dillard *et al.* (1978) demonstraram que o exercício físico provoca um aumento na peroxidação lipídica. Eles observaram um aumento de 1,8 vezes nos níveis de pentano exalado, um possível metabólito do dano oxidativo de ácidos graxos, após 60 minutos de ciclismo entre 25-75% de $\text{VO}_{2\text{máx}}$. Desde então, tenta-se compreender através de quais vias metabólicas seriam produzidos os RL no tecido muscular esquelético. Davies *et al.* (1982) encontraram evidências diretas da produção elevada de RL na musculatura esquelética durante o exercício exaustivo. Neste estudo foi mostrado através da técnica de ressonância magnética de spin a síntese de RL de oxigênio no músculo e no fígado de ratos após uma sessão de exercício agudo, e sugeriram as mitocôndrias como as principais responsáveis por esse

aumento das ERO. Mais tarde, Reid *et al.* (1992) utilizaram a molécula de diclorofluoresceína para medir a síntese de ERO em fibras isoladas de músculo. Esses autores verificaram um aumento da oxidação da diclorofluoresceína, que foi relacionado com a produção de ERO após contrações repetitivas.

Até recentemente, acreditava-se que a síntese de RL na atividade física tinha apenas efeitos deletérios para o organismo. Hoje, é reconhecido que baixos níveis de RL presentes na musculatura em repouso podem sinalizar etapas da contração normal. As ERO e as ERN modulam vários elementos da função celular, como captação de glicose, metabolismo mitocondrial, transcrição gênica e catabolismo muscular. Tais metabólitos ainda têm complexos efeitos autócrinos/parácrinos nos componentes celulares que regulam a contração (SMITH & REID, 2006).

4.2. Fontes de RL no exercício físico

Durante o exercício físico, tanto a atividade aeróbia quanto anaeróbia podem aumentar, respectivamente, 20 e 50 vezes o consumo energético do tecido muscular. Especialmente no exercício aeróbio, o fluxo de oxigênio no músculo esquelético aumenta em cerca de 100 vezes e o fluxo sangüíneo em 30 vezes (SEN, 1995). Na passagem do estado de repouso para o exercício, nenhum outro tecido, além do muscular, é capaz sofrer tamanha mudança quanto ao consumo de oxigênio. Assumindo que uma porcentagem fixa deste oxigênio é reduzida a $O_2^{\cdot -}$ (1 a 2%), a musculatura exercitada é uma fonte geradora em potencial de ERO (CLANTON *et al.*, 1999).

A informação do último parágrafo remete à idéia de que a cadeia transportadora de elétrons (CTE) mitocondrial é a principal fonte de RL, levando a um aumento do metabolismo oxidativo e, conseqüentemente, da produção de RL. Seguindo este raciocínio, o que ocorre é um “vazamento” na cadeia respiratória, localizada na membrana interna mitocondrial. Vários

dos centros de oxirredução existentes nos quatro complexos enzimáticos que compõem a cadeia respiratória podem ser oxidadas por oxigênio molecular, resultando na formação de $O_2^{\cdot -}$ (VOLLARD *et al.*, 2005).

Entretanto, o $O_2^{\cdot -}$ produzido pelo músculo exercitado pode ser detectado no espaço extracelular e no compartimento vascular. Parece improvável que os RL gerados na mitocôndria atravessem a matriz mitocondrial, as membranas mitocondriais interna e externa, o citossol e o sarcolema sem sofrerem nenhuma reação química (REID, 2001). O oxigênio que chega a CTE é consumido quase que exclusivamente pela citocromo c oxidase, localizada no complexo IV. A estrutura e a química de oxirredução existente no complexo IV não permite nenhuma saída de $O_2^{\cdot -}$ (FINAUD *et al.*, 2006). Além disso, a taxa de produção de $O_2^{\cdot -}$ é linearmente dependente da pressão intracelular do oxigênio, e não da quantidade de oxigênio que a célula recebe. Deve-se notar que a maioria dos estudos que mostraram altas taxas de produção mitocondrial *in vitro* de $O_2^{\cdot -}$ são conduzidos em pressão parcial de O_2 suprafisiológico, exatamente o oposto do encontrado no músculo exercitado (COOPER *et al.*, 2002). Não é por causa das razões citadas neste parágrafo que a mitocôndria deixa de ser considerada fonte de ERO na atividade física, mas sim que os estudos *in vivo* sobre o assunto necessitam consolidar um mito há muito disseminado no meio científico.

Outro mecanismo considerado responsável pela produção de RL no exercício é o processo de isquemia-reperfusão. Na atividade física intensa ocorre hipóxia transitória dos tecidos periféricos, como rins e baço, afim de que ocorra aumento no suprimento sanguíneo do tecido muscular e da pele. Em exercícios realizados em intensidade acima do $VO_{2máx}$, o tecido muscular pode sofrer hipóxia, pela falta de circulação sanguínea após repetidas contrações (isquemia). A reoxigenação destes tecidos logo depois do rápido aumento no fluxo sanguíneo (reperfusão) pode levar à produção de RL (COOPER *et al.*, 2002; UCHIYAMA *et al.*, 2006). Esta isquemia, seguida de reperfusão causada pelo exercício intenso, promove uma queda nos níveis de trifosfato de adenosina (ATP), conseqüentemente aumentando os níveis intracelulares de difosfato de adenosina (ADP) e monofosfato de

adenosina (AMP). Tal aumento na concentração de ADP e AMP leva à sua degradação e à conversão de xantina desidrogenase (XD) em xantina oxidase (XO) (BLOOMER & GOLDFARB, 2004). Esta alteração pode ser irreversível quando ocorrem distúrbios na homeostase do cálcio (Ca^{2+}), comum na instalação de estresse oxidativo, como será explicado posteriormente. Este íon por sua vez ativa proteases que degradam parte da XD (GANDRA *et al.*, 2006). Tanto a XD como a XO na reperusão convertem hipoxantina em xantina, e conseqüentemente em ácido úrico. Apenas a XO forma $\text{O}_2^{\cdot -}$ como subproduto final da reação (COOPER *et al.*, 2002) (FIGURA 2). Quando não são produzidas na própria musculatura exercitada, os produtos da isquemia-reperusão chegam à mesma através da circulação (CLANTON *et al.*, 1999).

O uso de alopurinol, inibidor da xantina oxidase, em indivíduos submetidos ao exercício exaustivo, preveniu aumento nos níveis de marcadores de lesão muscular e oxidação de glutathione (GOMEZ-CABRERA *et al.*, 2005). O resultado deste trabalho aponta a importância da XO como uma das principais fontes de EROs no exercício físico, talvez até em maior escala do que a mitocôndria.

FIGURA 2. Representação esquemática do ciclo das purinas na musculatura esquelética. As setas mais largas indicam a via predominante no exercício. Adaptado de Gandra *et al.* (2006).

Alterações no metabolismo muscular causadas por dano celular subsequente ao estresse oxidativo sinalizam uma resposta inflamatória,

onde células fagocitárias – neutrófilos, principalmente – se infiltram no tecido danificado (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). Tais neutrófilos produzem a enzima NAD(P)H oxidase, que catalisa a produção de $O_2^{\cdot -}$ usando NAD(P)H como doador de elétron (Reação 1):

A NAD(P)H oxidase também participa de células não fagocíticas, produzindo $O_2^{\cdot -}$ como um sinalizador intracelular (TOUYZ & SCHIFFRIN, 2004). Na musculatura esquelética de ratos e humanos a NAD(P)H oxidase localiza-se próxima ao sarcolema (GANDRA *et al.*, 2006). Os neutrófilos produzem ainda mieloperoxidase (MPO), uma enzima com ferro em sua estrutura, que catalisa a conversão de H_2O_2 em ácido hipocloroso HOCl (VOLLARD *et al.*, 2005).

O NO é sintetizado a partir da molécula de oxigênio e L-arginina pela enzima NO sintase (NOS). A musculatura esquelética expressa a isoforma neuronal da NOS (nNOS), localizada próxima ao sarcolema. A isoforma endotelial (eNOS) está presente em estruturas vasculares adjacentes. Tanto a nNOS como a eNOS são enzimas reguladas pelo cálcio, que produzem NO em pequenas proporções afim de manter processos de sinalização celular. Na ocorrência de inflamação pode haver a expressão da NOS indutiva (iNOS), cuja atividade não é regulada pelo cálcio em condições biológicas (SMITH & REID, 2006). A NOS tem uma maior atividade nas fibras musculares do tipo IIb, glicolíticas, do que nas do tipo I, oxidativas. Assim, a atividade da NOS é mais proeminente nos exercícios anaeróbios. Uma alta produção de NO durante a contração dá início a uma cadeia de reações produtoras de RL, onde o NO interage com o $O_2^{\cdot -}$ para gerar $ONOO^{\cdot -}$ (REID, 2001).

As ciclooxigenases (COX) catalisam as etapas iniciais da conversão do ácido araquidônico (AA) no intermediário prostaglandina H_2 , que, por sua vez, é convertida em prostaglandinas e tromboxanas, dando início às respostas inflamatórias. A partir desta cascata de reações, as COX também

produzem ERO. Dupouy *et al.* (2006) demonstraram recentemente que a expressão das COX está aumentada na isquemia/reperfusão da musculatura esquelética.

A oxidação de proteínas heme como a hemoglobina (Hb) e a mioglobina (Mb) também leva à produção de RL. A autooxidação da Hb, que aumenta durante o exercício, produz metahemoglobina e $O_2^{\cdot-}$. A Mb também é auto-oxidada ou oxidada por RL durante isquemia-reperfusão com a produção de H_2O_2 . Outros processos relacionados com a produção de RL no exercício envolvem as catecolaminas, a elevação da temperatura corporal e o ácido láctico, que por sua vez é capaz de converter $O_2^{\cdot-}$ em $OH^{\cdot}$ (FINAUD *et al.*, 2006).

4.3. Os mecanismos de defesa antioxidantes no exercício físico

O músculo esquelético é continuamente submetido a cargas de estresse oxidativo durante o exercício, aumentando assim a produção de RL no tecido (JACKSON, 1999). Todavia, existem mecanismos endógenos protetores antioxidantes que defendem a célula muscular de eventuais danos de tal processo.

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 (HALLIWELL, 2006a). Diversas substâncias fisiológicas enzimáticas e não enzimáticas são reconhecidas como antioxidantes (SEN, 1995). Os antioxidantes não enzimáticos consistem principalmente de GSH e ceruloplasmina. Os antioxidantes dietéticos exógenos (vitaminas C e E, β -caroteno, cobre, selênio, zinco, ubiquinona e flavonóides) interagem com os antioxidantes endógenos compondo uma rede celular antioxidante integrada (FINAUD *et al.*, 2006; PEREIRA & ABDALLA, 2005; POWERS & LENNON, 1999; POWERS *et al.*, 2004; URSO & CLARKSON, 2003). Já os antioxidantes enzimáticos são representados por superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) e catalase (CAT).

A SOD tem como função remover os radicais $O_2^{\cdot -}$, intermediários da redução de O_2 . Ela catalisa a conversão do $O_2^{\cdot -}$ em H_2O_2 , que é transformado em água por ação de catalases e peroxidases.

Existem duas isoenzimas da SOD nas células de mamíferos. A isoforma Cu/ZnSOD fica no citossol, enquanto a MnSOD é encontrada na mitocôndria. No músculo esquelético, 65 a 85% da atividade total da SOD está no citossol, enquanto 15 a 35% está na mitocôndria. A atividade da SOD é maior em músculos com alta capacidade oxidativa (fibras musculares do tipo I) em comparação a músculos com baixa capacidade oxidativa (com predominância de fibras musculares do tipo IIb) (POWERS & LENNON, 1999).

A GPx é a enzima responsável pela redução de H_2O_2 em H_2O . Para trabalhar adequadamente, a GPx precisa de um doador de elétrons, a glutathiona reduzida (GSH). O resultado da reação enzimática é a oxidação da GSH em GSSG (Reação 3). Já a GSSG é reduzida a GSH pela reação enzimática dependente de NADPH catalisada pela GR (Reação 4).

A GPx é altamente específica por seu doador de elétrons, o GSH. Porém, esta enzima possui baixa especificidade por substratos. Isto faz com que a GPx seja um importante protetor celular contra danos causados pelas ERO às membranas lipídicas ou a outras moléculas sensíveis à oxidação (HALLIWELL, 2006a).

A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase é considerada a principal fonte celular de NADPH por reduzir o estresse oxidativo ao elevar a concentração de GSH. Todavia, com a ausência de tal enzima na

mitocôndria, a isocitrato desidrogenase mitocondrial (IDPm) vem sendo reconhecida como uma peça importante na defesa celular contra danos oxidativos ao fornecer o NADPH na mitocôndria necessário para a regeneração de GSH pela GR (JO *et al.*, 2001). No tecido muscular é fundamental esta função da isocitrato desidrogenase, em comparação à atividade da mesma enzima em outros tecidos (POWERS & LENNON, 1999).

A CAT, assim como a GPX, decompõe H_2O_2 (Reação 5), que é utilizado na oxidação de diversos doadores de hidrogênio (AH_2), tais como metanol e etanol (SEN, 1995).

Do contrário, o H_2O_2 se combina diretamente com o Fe, na forma iônica Fe^{2+} , na chamada reação de Fenton.

A diferença entre a atividade da CAT e da GPx está na afinidade por H_2O_2 . A CAT só remove o H_2O_2 quando ele está em concentrações elevadas. Portanto, quando o H_2O_2 encontra-se em menores concentrações celulares, a GPx está mais ativa. A maior parte da CAT localiza-se nos peroxissomas, e em menor quantidade no citoplasma (HALLIWELL, 2006a).

Tanto a GPx como a GR atuam no citossol e na mitocôndria. Assim como a SOD, a atividade da CAT e da GPx é maior nas fibras musculares do tipo I e menor nas fibras musculares do tipo IIb (POWERS & LENNON, 1999).

Um outro mecanismo de proteção para o músculo esquelético durante o exercício que por enquanto não é considerado um antioxidante, mas que também tem reconhecida importância é a produção de proteínas de choque térmico (*heat shock proteins* ou HSP) após exercício físico. Existem vários tipos de HSP, que são classificadas de acordo com a sua massa molecular.

Geralmente tais proteínas apresentam massa molecular na casa dos 70 kDa (CLOSE *et al.*, 2005). As HSP são produzidas pela musculatura esquelética em resposta a formas de atividade contrátil. Em um estudo onde sóleo de ratos foi submetido a estímulo elétrico para contração isométrica *in vivo* por 15 minutos, as concentrações de HSP60 aumentaram em relação aos valores observados antes da estimulação. Os mecanismos que levam à produção das HSP ainda não estão totalmente caracterizados (MCARDLE *et al.*, 2001).

A FIGURA 3 apresenta as principais vias metabólicas de produção das ERO e ERN.

FIGURA 3. Principais vias metabólicas das ERO e ERN.

A formação das ERO ocorre em células vasculares, próximas a diversos tecidos, e em tecidos infiltrados por neutrófilos. O $O_2^{\bullet -}$ (radical superóxido) é a molécula que dá início à produção das outras ERO, sendo convertido em H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) pela SOD (superóxido dismutase) e em H_2O (água) e O_2 (oxigênio) pela CAT (catalase) e pela GPX (glutathione peroxidase). Os radicais $O_2^{\bullet -}$ e H_2O_2 formam $OH^{\bullet}$ (hidroxila) através da reação de Fenton, na presença de Fe^{2+} ou Cu^{2+} . O H_2O_2 ainda produz $HOCl$ (ácido hipocloroso) ao reagir com o íon Cl^- (cloreto) a partir da ação da enzima mieloperoxidase presente em neutrófilos. O NO (óxido nítrico) produzido pela NO sintetase reage com a $OH^{\bullet}$ e forma $ONOO^-$ (peroxinitrito). FONTE: HASEBE, 2005.

4.4. Dano muscular e exercício físico

Especialmente com o treinamento físico regular, as células musculares se adaptam a um eventual incremento na produção de RL, com o aumento da ação dos mecanismos de proteção citados anteriormente, reduzindo assim o surgimento de lesões (MCARDLE *et al.*, 2002). Enquanto a atividade física exaustiva aumenta o dano oxidativo, a atividade física moderada pode inclusive reduzir a ação do estresse oxidativo sobre os tecidos (NAKATANI *et al.*, 2005).

Dentre os três tipos de contração envolvidos no trabalho muscular (encurtamento, alongamento e isométrico), as contrações de encurtamento são consideradas as mais prejudiciais ao músculo (CLOSE *et al.*, 2005).

O dano muscular após o exercício físico pode ser caracterizado pelo aumento das concentrações de diversas substâncias, tais como as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), malondialdeído (MDA) ou, ainda, dienos conjugados. O aumento das concentrações plasmáticas ou séricas de proteínas, como a creatina quinase (CK) e a lactato desidrogenase (LDH), é importante por refletir se houve ou não rhabdomiólise e, conseqüentemente, a saída destas do músculo danificado (BLOOMER & GOLDFARB, 2004). Outros indicadores utilizados são a determinação da atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx), dos produtos da oxidação de proteína e de DNA. O procedimento mais adequado para avaliação do estresse oxidativo é fazer uso de mais de um método, devido à complexidade deste fenômeno (URSO & CLARKSON, 2003).

Logo após o exercício físico, o músculo apresenta um “micro” dano que tem início no nível de miofibrilas. Caso não tenha um tempo mínimo para recuperação antes de uma subsequente sessão de exercício, o tecido muscular pode continuar sendo danificado, o que pode, inclusive, levar à apoptose (morte celular programada) (CLOSE *et al.*, 2005).

Maiores concentrações de RL no músculo fazem com que canais de íons Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (RS) liberem este íon em maior quantidade no sarcoplasma, aumentando a sua concentração intracelular

(REID, 2001). Os níveis de ferro intracelular também aumentam, dando mais chance de reagir com RL (HALLIWELL, 2006a). A presença de RL no músculo inativa suas enzimas, especificamente aquelas envolvidas no metabolismo energético, como as proteínas quinases. O NO em particular pode diminuir a capacidade contrátil por inibir a atividade da ATPase dependente de cálcio do RS e por induzir a hiperpolarização do potencial de membrana. A diminuição da atividade das ATPases dificulta também a ação das proteínas contráteis (actina e miosina), diminuindo assim o mecanismo de contração muscular (FINAUD *et al.*, 2006).

De fato, a literatura não tem sido consistente na demonstração do dano muscular como resultado do estresse oxidativo induzido pelo exercício. A variabilidade de resultados encontrados depende do tipo de exercício (intensidade e duração), dos indivíduos estudados (treinado ou destreinado; humano ou animal), do seu estado nutricional e dos métodos de determinação de estresse oxidativo (GOLDFARB, 1999). Sureda *et al.* (2005) observaram no sangue de ciclistas profissionais após percorrerem 172 Km o aumento significativo na atividade da CAT de eritrócitos e na atividade da MPO em neutrófilos após o exercício, bem como maior concentração de MDA plasmática e eritrocitária. Houve também hemólise induzida pelo exercício prolongado; conclui-se que concentrações maiores de MDA nos eritrócito se deveram à alta produção de H_2O_2 a partir da oxidação do grupo heme. Já no plasma o incremento da MDA estaria relacionada ao HOCl proveniente da maior atividade da MPO. Uchiyama *et al.* (2006) verificaram que a concentração de CK no soro de ratos após uma sessão de levantamento de peso foi maior após o exercício, assim como as concentrações de SOD, CAT e GPx nos músculos sóleo e plantar. Análises histológicas do tecido muscular apontaram ainda a infiltração de macrófagos no tecido. Estes resultados sugerem que realmente houve dano muscular após o exercício provocado pelo estresse oxidativo.

4.5. Magnésio

O magnésio é o quarto cátion mais abundante em organismos vivos (no corpo humano: cálcio >potássio >sódio >magnésio), participando de uma variedade de reações bioquímicas fundamentais (WOLFE & CITTADINI, 2003). Desta forma, não é inesperado que sua deficiência no organismo possa causar alterações bioquímicas.

Relatos consistentes apontam a participação da deficiência de magnésio na redução da integridade e da função das membranas celulares, e na elevação da suscetibilidade ao estresse oxidativo, bem como na patogênese de diversas doenças, tais como as cardiovasculares, pré-eclâmpsia/eclâmpsia, derrame, hipertensão, diabetes mellitus, asma brônquica, além de seu possível envolvimento na enxaqueca, osteoporose, alcoolismo e nos distúrbios do sistema imunológico (ANASTASSOPOULOU & THEOPHANIDES, 2002; IOM, 1997).

O magnésio é um mineral importante em várias reações celulares, participando de quase todas as ações anabólicas e catabólicas. Cerca de 300 sistemas enzimáticos são dependentes da presença de magnésio (SABATIER *et al.*, 2002). Algumas destas atividades incluem a glicólise e o metabolismo protéico e lipídico (LUKASKI, 2004). O papel do magnésio na regulação da via glicolítica e no ciclo do ácido tricarboxílico é particularmente importante. Na primeira das quatro reações de oxidação-redução de tal ciclo, o isocitrato é convertido em α -cetoglutarato pela isocitrato desidrogenase, enzima que necessita de magnésio para sua atividade (BRILLA & LOMBARDI, 1995). O magnésio é importante tanto na geração de energia aeróbia quanto anaeróbia, indiretamente, como complexo Mg-ATP, ou diretamente, como um cofator enzimático (IOM, 1997).

O magnésio é importante para enzimas que utilizam nucleotídeos como cofatores ou substratos. Também é requisitado para síntese de proteínas e ácidos nucleicos, bem como para ligação de moléculas à membrana plasmática. O magnésio freqüentemente modula o transporte iônico por bombas, carreadores e canais atuando na modulação da

transdução de sinais e das concentrações citossólicas de cálcio e potássio (SARIS *et al.*, 2000).

Segundo DURLACH (1980), citado por LEDERER (1990), o magnésio é um estabilizador de membrana: ele age sobre o equilíbrio eletroquímico pelo controle que exerce na atividade da sódio-potássio-ATPase. É pelo seu gradiente elevado que o magnésio, concentrado ao redor das membranas, tem papel decisivo na manutenção de uma concentração muito diferente de diversos íons para cada lado da barreira estabelecida pela membrana. O magnésio e o cálcio formam complexos estáveis com os fosfolípidios que fazem parte das membranas celulares. Dependendo da concentração de ambos, eles podem agir sinergisticamente ou antagonicamente (GIBSON, 1990). Assim, o magnésio é denominado de “bloqueador natural do canal de cálcio”. Na depleção de magnésio, o cálcio intracelular eleva-se. Visto que o cálcio exerce importante papel na contração tanto da musculatura lisa como da esquelética, um quadro de depleção de magnésio pode resultar em câimbras musculares, hipertensão, e vasoespasmos coronarianos e cerebrais (IOM, 1997).

4.5.1. Distribuição de magnésio no organismo

Mais da metade dos 21 a 28 g de magnésio encontrado no organismo fica armazenado nos ossos, sendo o restante distribuído entre a musculatura e os tecidos moles. Apenas cerca de 1% do magnésio está presente nos compartimentos de fluido extracelular e plasma (TABELA 2) (SARIS *et al.*, 2000).

O magnésio é distribuído em compartimentos de trocas rápidas (coração, fígado, intestino, pele e outros tecidos conectivos) e de trocas lentas (ossos e musculatura esquelética). Nas situações nas quais a ingestão é adequada, os estoques de magnésio parecem ser mobilizados conforme demandas específicas dos sistemas corporais, ou seja, o magnésio transita lentamente entre os compartimentos ósseo, muscular, e eritrocitário e apresenta rápida aparição no coração, fígado, intestino, pele e

outros tecidos conectivos. Já nos casos de deficiência, os compartimentos de troca lenta suprem órgãos vitais, como coração e fígado (BRILLA *et al.*, 1989).

Dentro da célula o magnésio é o segundo cátion mais abundante, onde 90 % do íon está ligado e 10% livre. O magnésio intracelular está ligado principalmente a ácidos nucleicos, ATP, fosfolipídios carregados negativamente e proteínas (WOLF & CITTADINI, 2003).

TABELA 2. Distribuição e concentrações de magnésio em um adulto saudável

Porcentual de distribuição	Concentração
Osso (60-65%)	0,5% das cinzas do osso
Músculo (27%)	150 – 240mg (peso seco)
Outras células (6 –7%)	150 – 240mg (peso seco)
Extracelular (< 1%)	
Eritrócitos	60mg
Soro	17 – 270mg
55% livre	
13% complexado	
32% ligado principalmente a albumina	
Células sangüíneas mononucleares	60 – 85mg
Fluído cerebroespinal	30mg
55% livre	
45% complexado	
Suor	7mg (em ambiente seco)
Secreções	7 – 17mg

FONTE: VORMANN (2003)

4.5.2. Absorção e excreção de magnésio

A quantidade de magnésio absorvido no trato digestório varia de acordo com sua concentração na dieta e, até um certo limite, com a presença de componentes dietéticos inibidores ou promotores. Quanto maior a quantidade de magnésio ingerido, menor a porcentagem absorvida (IOM, 1997). O transporte para o meio interno pode ocorrer em todo trato gastrointestinal, especialmente em nível de jejuno e íleo. Há evidências também do envolvimento do cólon nesse processo (BOHL & VOLPE, 2002).

A absorção dos íons de magnésio não parece sofrer controle hormonal. Na ocorrência de consumo dietético de magnésio menor do que as necessidades, a principal forma de absorção ativa é paracelular, envolvendo o transporte de sódio. Contudo, no caso de uma ingestão dietética maior que o recomendado, modelos de difusão passiva de magnésio também são possíveis (RUDE, 1998; VORMANN, 2003).

Os rins são os principais órgãos envolvidos na homeostase do magnésio. Eles atuam em um processo de filtração e reabsorção. Há um limiar de magnésio filtrado nos rins, que, caso seja ultrapassado, leva à excreção do mineral, ou conservado, quando não for possível chegar a tal valor. Este limiar é próximo da concentração plasmática considerada normal para magnésio (RUDE, 1998). Assim, em dietas pobres em magnésio sua excreção urinária é reduzida. Aproximadamente 65% do magnésio filtrado é reabsorvido na alça de Henle e 20 a 30% no túbulo proximal (IOM, 1997).

O uso de medicamentos diuréticos, aldosterona e hormônios tireoidianos, cafeína e álcool aumenta a excreção de magnésio, enquanto o hormônio paratireoideano inibe a excreção de magnésio (BOHL & VOLPE, 2002).

Recentemente, foi descoberto que existem canais de íon permeáveis ao magnésio denominados melastatina com potencial de receptor transitório (*transient receptor potencial melastatin* ou TRPM), as TRPM6 e TRPM7. Estes TRPMs são únicos por serem polipeptídeos com a dupla função de canal de íon e proteína quinase, sendo classificadas como chanzimas

(CAHALAN, 2001). As TRPM6 são expressas preferencialmente no intestino delgado, cólon e rins, enquanto as TRPM7 estão mais distribuídas pelo organismo. A TRPM7 é regulada por níveis intracelulares de Mg-ATP. Foi demonstrado recentemente que TRPM6 e 7 são expressas nas células vasculares. Além do mais, a TRPM7 está seriamente envolvida na entrada de Mg na célula vascular muscular lisa, e que as TRPM6 e 7 são reguladas pela aldosterona e angiotensina II (SCHIFFRIN & TOUYZ, 2005).

4.5.3. Parâmetros bioquímicos do estado nutricional relativo ao magnésio

Os parâmetros bioquímicos para a avaliação do estado nutricional em minerais e de magnésio em particular não são bem definidos.

Os estudos de balanço são a forma mais antiga de avaliação nutricional em magnésio. Eles idealmente são conduzidos em centros de pesquisa onde a dieta é constante e controlada. Porém, esta técnica ainda apresenta vários problemas, inclusive por avaliar diversos dos parâmetros citados na sequência. Além disso, perdas de magnésio através do suor e da descamação dérmica dificilmente são consideradas (IOM, 1997).

Mais recentemente vêm sendo utilizados com relativa frequência estudos de balanço com isótopos estáveis (FEILLET-COUDRAY *et al.*, 2003). Todavia, este é um procedimento complexo e de alto custo, dificultando sua difusão na área de estudo. Também são estudadas metodologias de determinação do magnésio livre, como a ressonância nuclear magnética ou através de eletrodos específicos para magnésio. Contudo, a importância de tais métodos não foi bem esclarecida, dificultando sua utilização (MARTINI & WOOD, 2001).

A aferição do magnésio sérico, plasmático ou eritrocitário é o indicador do estado nutricional mais utilizado (VORMANN, 2003). A urina é a principal forma de excreção do magnésio absorvido. A excreção é reduzida em indivíduos com reservas corporais depletadas de magnésio devido aos mecanismos de conservação renais. A excreção urinária deste mineral é

usada para se avaliar o seu estado nutricional com um teste de sobrecarga, cujo método é considerado o mais confiável na detecção da deficiência de magnésio (BOHL & VOLPE, 2002). Por considerar os tecidos com maior concentração de magnésio no organismo, a determinação do conteúdo deste mineral no osso e músculo reflete eficazmente suas reservas corporais. Todavia, as técnicas de obtenção de amostras de tecido no músculo e no osso são altamente invasivas e limitantes na pesquisa em humanos (MARTINI & WOOD, 2001).

4.5.4. Recomendações dietéticas e fontes alimentares de magnésio

Ainda é controversa a determinação das reais necessidades de magnésio para um grupo de determinado gênero e faixa etária. A observação do consumo dietético de um nutriente é uma das formas mais comuns de se avaliar sua adequação no estado nutricional (NIELSEN & LUKASKI, 2006). Para isso, as Ingestões Dietéticas de Referência (IDR) são um grupo de padrões de referência mais utilizadas, apesar das dificuldades para o estabelecimento das mesmas, como será explicado na sequência.

As IDR são definidas como quantidades de nutrientes essenciais considerados suficientes para alcançar as necessidades fisiológicas de praticamente todas as pessoas saudáveis em um específico grupo e a quantidade média de fontes alimentares de energia necessárias pelos membros do grupo (NRC, 1989).

Elaborado pelos EUA em conjunto com Canadá, fazem parte das IDR a Necessidade Média Estimada (EAR - *Estimated Average Requirement*) e a Recomendação Nutricional (RDA – *Recommended Dietary Allowance*) (IOM, 2000).

A EAR de um nutriente é definida como a mediana da ingestão usual estimada que supre a necessidade de 50% dos indivíduos saudáveis em uma determinada faixa etária e gênero. A RDA é o nível de ingestão média diária capaz de suprir a necessidade do nutriente de quase todos os indivíduos saudáveis em uma faixa etária e um gênero em particular. A RDA

representa então o valor que supre as necessidades de 97 a 98% dos indivíduos no grupo, caso a distribuição das necessidades apresente normalidade (IOM, 2000). A RDA é obtida a partir da EAR e do desvio padrão (DP) das necessidades: $RDA = EAR + 2DP_{NEC}$.

A RDA para o magnésio é de 400 a 420 e 310 a 320 mg diários para homens e mulheres adultas, respectivamente (SABATIER *et al.*, 2002). Todavia, grande número de pessoas em países industrializados consome menos do que o recomendado, havendo grande prevalência de deficiência dietética marginal de magnésio, fato que vem sendo associado com diversas doenças crônico-degenerativas (FORD & MOKDAD, 2003).

A polêmica a respeito das IDR para magnésio está no fato dos valores citados acima terem sido estabelecidos praticamente a partir de um único estudo. Neste estudo (LAKSHMANAN *et al.*, 1984), para os homens, observou-se que a ingestão entre 204 e 595 mgMg/dia era suficiente para manter o balanço entre 4 dos 9 homens estudados. Os 5 homens restantes não alcançaram balanço em magnésio. Dentre as 8 mulheres estudadas, 3 delas mantiveram o balanço em magnésio com a ingestão entre 213 e 304 mgMg/dia.

Na obtenção de mais dados a respeito das necessidades médias para o magnésio, Hunt e Johnson (2006) analisaram os dados relativos ao balanço de magnésio de 27 estudos diferentes do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, todos conduzidos em unidades metabólicas e rigorosamente controlados. Seus resultados mostraram que o balanço do magnésio não é afetado pelo gênero ou faixa etária. Um balanço neutro para o magnésio (ou seja, ingestão magnésio = excreção magnésio) ocorre em pessoas saudáveis com uma ingestão de 165 mg Mg/dia. Considerando as EAR estabelecidas atualmente, este valor de necessidade seria 40 a 45 % menor para as mulheres e cerca de 50% menor para os homens.

O resultado desta última referência está de acordo com a idéia de que as IDRs estarem superestimadas. Moshfegh *et al.* observaram, entre 2001 e 2002, que, nos Estados Unidos, 64% das pessoas com 51 a 70 anos não alcançaram as suas EAR para o magnésio (265 mg Mg/dia). No Brasil, na

população adulta, a ingestão de magnésio também costuma estar abaixo do recomendado. Em uma dieta regional de Manaus para famílias de baixa renda, encontrou-se 279 mg/d como consumo médio de magnésio para homens e mulheres adultos (YUYAMA *et al.*; 1992) .

No caso de roedores, as suas necessidades nutricionais estão bem estabelecidas. O oferecimento de 500 mg Mg/ kg ração é considerado o suficiente (REEVES, *et al.*, 1993), mesmo que em alguns trabalhos a ração controle fornecida apresente o dobro deste valor (RUDE *et al.*, 2005).

O magnésio é um mineral presente na maioria dos alimentos em concentrações muito variadas. Pelo fato de ser um componente da estrutura da clorofila apresenta-se em altas concentrações nos vegetais escuros folhosos bem como nas oleaginosas, nos cereais integrais e nas frutas secas (WARNIP, 1990). O consumo total de magnésio varia com o consumo calórico, o que explica os valores mais elevados em jovens e homens adultos e níveis mais baixos em mulheres e em idosos (DRI, 1997). A TABELA 3 mostra a concentração de magnésio em diversos alimentos nacionais.

TABELA 3. Concentração de magnésio total em amostras de alimentos nacionais.

Alimento	Magnésio total (mg/100g)
Leite semi-desnatado PARMALAT [®]	8,9
Filé de pescada crua	25,8
Filé de pescada cozida	28,3
Coxão mole cozido	29,0
Aveia em flocos QUAKER [®]	126,2
Farelo de aveia QUAKER [®]	199,1
Farinha de milho pré-coz QUAKER [®]	43,7
Pão de trigo integral WICKBOLD [®]	57,0
Pão de trigo intl light WICKBOLD [®]	54,6
Mandioca crua	50,7
Mandioca cozida	42,7
Feijão carioca cru	176,9
Feijão carioca cozido com caldo	26,2
Batata inglesa crua	22,1
Batata inglesa cozida	17,7
Quiabo cru	51,7
Quiabo refogado	33,8
Espinafre cru	73,5
Espinafre refogado	85,2
Banana ouro	37,7
Banana prata	40,0
Banana maçã	31,2
Banana misori	33,9
Achocolatado em pó NESCAU [®]	84,6
Achocolatado em pó light NESCAU [®]	115,4

FONTE: AMORIM (2002)

A água em diversos estudos também é uma fonte de magnésio, podendo contribuir com cerca de 10% do magnésio ingerido pela população norte-americana (SARIS *et al.*, 2000). No caso do Brasil, onde o solo é pobre em magnésio, a contribuição do consumo diário recomendado de 2L de água mineral não ultrapassa os 7% da EAR preconizada para homens adultos (TABELA 4). Assim, dependendo de sua procedência e de como é armazenada, a dureza da água pode aumentar, também aumentando a concentração dos sais de magnésio (AL-SALEH & AL-DOUSCH, 1998).

TABELA 4. Concentração de magnésio total em amostras de água.

Amostra	Magnésio total ($\mu\text{gMg/mL}$)	Consumo diário Total ¹ (mgMg/d)	% relativa do consumo de água à EAR para o Sexo masculino (19 a 30 anos) ²
Água de torneira	0,84	1,7	0,5
Água de filtro (carvão ativado)	0,83	1,7	0,5
Minalba [®]	9,29	18	5,5
Schincariol [®]	11,73	23	7,0
Cristal [®]	1,08	2,2	0,7
Nestlé [®]	4,92	9,4	2,8

(1) considerando o consumo de 2L água/dia

(2) 330 mgMg/d

FONTE: AMORIM (2002)

4.5.5. Ingestão dietética de magnésio em atletas

Os valores de consumo dietético de magnésio encontrados em atletas variam muito, indo de 283 mgMg/dia em maratonistas (VÁSQUEZ, 1998) a 684 mgMg/dia em ciclistas em fase pré-competitiva (JENSEN *et al.*, 1992) .

Um mesmo grupo de pesquisa encontrou uma ingestão de magnésio de 548 e 423 mg/dia entre atletas finlandenses de diversas modalidades esportivas e esquiadores, respectivamente (FOGELHOLM *et al.*, 1991; FOGELHOLM *et al.*, 1992) . Todavia, Hickson *et al.* (1996) observaram um consumo de 361 mg Mg/dia em jogadores de futebol. Worme *et al.* (1990) encontraram que a ingestão de triatletas não profissionais foi de 362 mg Mg/dia . Dois trabalhos distintos com culturistas assinalaram que a ingestão obtida exclusivamente dos alimentos fica em 447 mg Mg/dia e 345 mg Mg/dia , respectivamente (FABER *et al.*, 1986; KLEINER *et al.*, 1990) .

Em decorrência do elevado consumo energético entre atletas, alguns trabalhos relatam o consumo de magnésio igual ou acima das recomendações dietéticas na maioria dos indivíduos do sexo masculino (KLEINER *et al.*, 1990). Quanto às atletas do sexo feminino, o consumo de magnésio é usualmente registrado menor que o recomendado. Além disso, independentemente do sexo, atletas participantes de atividades com

categorias divididas pelo peso corporal (judô, boxe) ou com padrão estético rígido (balé, ginástica olímpica) tendem a consumir quantidades inadequadas de magnésio, por volta de 50% da recomendação (LUKASKI, 1999).

4.5.6. Deficiência de magnésio

Uma deficiência grave de magnésio está associada a doenças ou fatores condicionantes, como distúrbios na absorção intestinal ou na homeostase, ou ainda em casos de perdas excessivas de tecidos corporais, fluídos, ou eletrólitos (SARIS *et al.*, 2000).

A deficiência grave de magnésio leva à hiperexcitabilidade muscular e a convulsões. Todavia, a deficiência marginal de magnésio em animais não resulta nos sinais clássicos de sua deficiência grave, mas sim em menor habilidade de lidar com o estresse, em mais danos cardíacos e vasculares, e em mal funcionamento do organismo (BRILLA & LOMBARDI, 1995). Portanto, o estado nutricional relativo ao magnésio afeta o desempenho esportivo ou a execução do exercício físico no nível exigido de intensidade e duração.

4.5.7. Toxicidade do magnésio

A ingestão de magnésio a partir de alimentos não causa efeitos adversos, exceto quando há falha na função renal. Todavia, casos de toxicidade em magnésio ocorrem principalmente quando existe o consumo de suplementos farmacológicos. O nível de ingestão tolerável (*Upper Tolerable Intake Level* – UL) estabelecido para o magnésio é de 350 mg Mg/dia, considerando exclusivamente o consumo de suplementos.

A forma de manifestação inicial do consumo excessivo de magnésio através de fontes não alimentares é diarreia. Também pode ocorrer paralisia cardíaca e muscular, bem como falha respiratória em casos extremos em

que os níveis séricos de magnésio chegam a ser 5 vezes maiores do que os valores de referência (BOHL & VOLPE, 2002; IOM, 1997).

4.6. Magnésio na atividade física

A hipótese da deficiência de magnésio prejudicar o desempenho físico teve início com o relato de Liu *et al.* (1983), onde uma tenista com espasmos musculares apresentou valores séricos (0,65 mM/L) abaixo do recomendado (0,8-1,2 mM/L). Os espasmos cessaram em poucos dias com a administração de 500 mg/d de gluconato de magnésio.

Os atletas, em particular, são um grupo populacional com tendência a apresentar perdas elevadas de magnésio pela urina e pelo suor em períodos de treinamento intenso (FINSTAD *et al.*, 2001). Inclusive, por esta razão, especula-se que as necessidades de atletas sejam 10 a 20 % maiores do que as recomendações atuais para um indivíduo sedentário de mesmo gênero e faixa etária (NIELSEN & LUKASKI, 2006).

Vários trabalhos observaram se a suplementação de magnésio poderia melhorar a função celular. Entretanto, constatou-se que suplementação de magnésio não apresenta efeitos benéficos no desempenho físico quando o seu estado nutricional relativo estiver adequado. Em outras palavras, a suplementação de magnésio não apresenta efeitos ergogênicos, apenas reverte o estado da sua deficiência (LUKASKI, 2004).

A realização da atividade física leva à redistribuição do magnésio no organismo, onde o tipo de exercício e o seu estado nutricional influenciam a natureza desta redistribuição. Os primeiros estudos a respeito do assunto afirmavam que os exercícios de alta intensidade e de curta duração aumentam a concentração sérica de magnésio em 5 a 15%, retornando aos seus valores iniciais 24 horas após os exercícios. Esta alteração era associada com uma redução no volume plasmático (BOHL & VOLPE, 2002). Em estudos do final da década passada até hoje, a perda de massa muscular seria correspondente ao aumento do magnésio sérico logo após o

exercício. Em contraste, no exercício prolongado ocorre redução da concentração sérica. Estes parâmetros geralmente retornam aos valores iniciais, provavelmente devido ao movimento do magnésio em direção a outros compartimentos e devido ao aumento da excreção pelo suor e urina. Desta forma, o magnésio é redistribuído no exercício para os locais com maior necessidade metabólica para a produção de energia ou na prevenção do estresse oxidativo (NIELSEN & LUKASKI, 2006).

O fluxo de magnésio ocorre durante e após o exercício físico. O magnésio muda do soro em direção aos adipócitos e à musculatura esquelética ativa durante a atividade física (FIGURA 4A). O grau de passagem do magnésio extracelular para estes órgãos é modulado pelo nível de produção de energia aeróbia. Logo após o exercício aeróbio, ocorre uma redistribuição do magnésio dos tecidos para a circulação (FIGURA 4B). O magnésio é então mobilizado para o osso, para os tecidos moles, para o músculo e para o adipócito, com a finalidade de restaurar as concentrações de magnésio plasmático prévias ao exercício. O grau de dano muscular, que por sua vez é uma função da intensidade e duração da atividade realizada, é um fator na liberação de magnésio do músculo esquelético. Apesar de mecanismos de reabsorção tubular amenizarem as perdas de magnésio pela urina, a excreção de magnésio urinário após o exercício fica aumentada em relação à antes do exercício por causa dos valores circulantes de ácido láctico (NIELSEN & LUKASKI, 2006).

FIGURA 4. Fluxo de magnésio durante (4A) e após (4B) atividade física. As setas normais indicam o fluxo de magnésio. As setas pontilhadas mostram os fatores moduladores. Adaptado de Nielsen & Lukaski (2006).

O magnésio participa da regulação da contração muscular pelo seu efeito direto no filamento pesado (miosina), na proteína regulatória (troponina), nas ATPases, no RS e outros pontos de armazenamento de cálcio (BRILLA & LOMBARDI, 1995). O magnésio ainda atua no músculo inibindo a liberação de acetilcolina, o neurotransmissor que dá início à contração muscular. Desta forma, a deficiência de magnésio no tecido muscular origina contrações musculares incontroláveis, além de prejudicar o transporte de potássio, sódio e cálcio (JOHNSON, 2001).

Na mitocôndria, o conteúdo de magnésio corresponde a um terço do seu total na célula, estando ligado ao ATP e como um componente de membranas e dos ácidos nucleicos. Os íons de magnésio são cofatores necessários em subunidades da CTE mitocondrial e da piruvato desidrogenase fosfatase (AMES *et al.*, 2005). Estas ações influenciam especificamente o exercício aeróbio, que depende da abundância de mitocôndria no músculo (BRILLA & LOMBARDI, 1995).

4.6.1. Deficiência de Mg e estresse oxidativo no exercício físico

Os primeiros estudos a respeito do efeito da deficiência de magnésio no estresse oxidativo já mostravam que a deficiência de magnésio modula os níveis de defesa antioxidantes. Hsu *et al.* (1982) observaram em ratos deficientes em magnésio menores concentrações de magnésio plasmático e redução na concentração de GSH eritrocitário. Esta falta de GSH nos eritrócitos seria um dos mecanismos que teria levado à hemólise na deficiência de magnésio. Calviello *et al.* (1994) relataram que a deficiência severa de magnésio foi acompanhada por aumento nas defesas antioxidantes, no caso SOD, glutatona e vitamina E hepáticas. Ainda assim, microssomas hepáticos de animais deficientes em magnésio mostraram-se mais suscetíveis à peroxidação lipídica. Do mesmo modo, Freedman *et al.* (1991) também relataram que a deficiência de magnésio aumentou o dano oxidativo no coração de hamsters.

Quanto à produção de RL, pôde-se observar que os mecanismos pelos quais a deficiência de magnésio leva ao estresse oxidativo ainda não estão completamente esclarecidos. É reconhecido que a deficiência de magnésio deixa as membranas celulares mais fluídas. Tal fluidez em grandes proporções é um ponto chave nas alterações celulares que ocorrem na deficiência de magnésio (FREEDMAN *et al.*, 1992).

No caso de atletas, os eritrócitos estão mais suscetíveis à hemólise, e a instalação da deficiência de magnésio reduz mais ainda a integridade celular, levando a um quadro de anemia. Tal anemia, mesmo que leve, vai prejudicar o desempenho físico (RAYSSIGUIER *et al.*, 1990).

A musculatura esquelética de animais deficientes em magnésio apresentou maior formação de RL e maior concentração de TBARS, alterando as suas estruturas celulares. Em animais, submetidos por 12 dias à dieta deficiente em magnésio, a musculatura esquelética apresenta o RS dilatado, bem como a mitocôndria, com suas cristas desorganizadas. Houve uma maior produção de radicais $\text{OH}^\cdot$. Contudo, a estrutura dos miofilamentos não foi alterada. Segundo os autores, provavelmente não houve tempo suficiente para que estas alterações fossem mais intensas (ROCK *et al.*, 1995a).

Recentemente, Liu *et al.* (2007) observaram em galinhas submetidas a 6 semanas de deficiência de magnésio uma maior produção de ERO e de MDA na musculatura esquelética em comparação ao grupo controle, em detrimento da produção reduzida de GSH. Na fração mitocondrial do músculo das aves deficientes em magnésio houve maior atividade de enzimas participantes da cadeia respiratória. Os autores especulam que, na deficiência de magnésio, a respiração celular acelera e a fosforilação cai. Além disso, a captação de magnésio poderia ser realizada através de um mecanismo dependente da respiração. O magnésio pode modular, ainda que parcialmente, a produção de ERO.

Visto que o magnésio é um antagonista natural do cálcio, concentrações menores de magnésio extracelular levam a um aumento no cálcio intracelular (IOM, 1997). Na deficiência de magnésio, é observada

maior atividade de canais de íon Ca^{2+} nas membranas do RS, aumentando a saída do íon para o sarcoplasma e, conseqüentemente, a sua concentração intracelular. Sem poder sair do sarcoplasma, o íon Ca^{2+} não pode se ligar à troponina, impedindo a alteração conformacional desta, bem como a contração muscular (BRILLA & LOMBARDI, 1995). Qualquer alteração na homeostase do cálcio ocorre devido às alterações dos componentes lipídicos da membrana induzida pela deficiência de magnésio (ASTIER *et al.*, 1996; ROCK *et al.*, 1994). Além disso, este excesso de cálcio intracelular leva ao aumento no consumo de oxigênio e ATP, e à hiperexcitabilidade, que pode causar câimbras musculares e fadiga (NIELSEN & LUKASKI, 2006).

A deficiência de magnésio também aumenta a ação dos receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), que, juntamente com a alta concentração de íon Ca^{2+} intracelular, ativam uma reação em cascata, que pode levar à morte celular (WOLF *et al.*, 2003). O cálcio ativa a caspase-12, enzima participante da apoptose, localizada no citoplasma, próxima ao retículo endoplasmático (DIRKS & LEEUWENBURGH, 2005).

A enzima fosfolipase A_2 libera ácido araquidônico a partir de fosfolipídios, sendo ativada pelo aumento das concentrações intracelulares de cálcio. A COX reage com o ácido araquidônico para gerar o radical $\text{OH}\cdot$ (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004). Lerma *et al.* (1995) observaram que na deficiência de magnésio a proporção de ácido araquidônico na membrana de eritrócitos foi reduzida, por meio de mecanismos ainda não esclarecidos. Assim, o ácido araquidônico ficou mais disponível para a formação de eicosanóides, colaborando conseqüentemente para a agregação de plaquetas e o aumento na suscetibilidade a lesões.

O processo inflamatório costuma ser apontado como uma importante fonte de estresse oxidativo. A ocorrência do dano tecidual leva à maior concentração de IL-1, IL-6 e $\text{TNF-}\alpha$ na área afetada. Tais citocinas, por sua vez, sinalizam, por meio de moléculas de adesão, a infiltração de células polimorfonucleares (CANNON & ST. PIERRE, 1998). Todavia, a resposta inflamatória pode ser potencializada pelo estresse oxidativo induzido pela

deficiência de magnésio (MAZUR *et al.*, 2007). Weglicki *et al.* (1992) observaram, em ratos Sprague-Dawley, que consumiram dieta deficiente em magnésio por 3 semanas, aumento significativo nas concentrações das citocinas interleucina 1 (IL-1), IL-6 e fator de necrose tumoral(TNF)- α derivadas de células polimorfonucleares em relação ao grupo controle. A presença de macrófagos, neutrófilos ou eosinófilos em tecidos com baixas concentrações de magnésio aumentou a produção de radicais $O_2^{\cdot-}$, facilitando a ocorrência de lesões teciduais.

Outro fenômeno supostamente envolvido na iniciação da resposta inflamatória devido à deficiência de magnésio no exercício físico é a ativação do NF κ B. A família do NF κ B consiste de grupos de fatores de transcrição induzíveis implicados na regulação de passos cruciais da resposta inflamatória pela regulação da expressão gênica de várias citocinas e outros genes ligados á resposta imunológica (MAZUR *et al.*, 2007). O exercício leva à ativação de proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs, *mitogen-activated protein kinases*), que por sua vez ativam o NF κ B na musculatura esquelética tanto em humanos quanto em animais, resultando na maior expressão de SOD, iNOS e eNOS (GOMEZ-CABRERA *et al.*, 2005).

Como a deficiência de magnésio aumenta a produção de NO (ROCK *et al.*, 1995b) e a atividade basal de neutrófilos (MAK *et al.*, 1997), ocorre maior produção do ONOO $^-$. Mak *et al.* (1996) verificaram que no eritrócito de ratos deficientes em magnésio houve perda significativa de GSH em relação aos animais do grupo controle, devido à superprodução de NO e à ativação de neutrófilos.

Recentemente, Scanlan *et al.* (2007) verificaram, no intestino de ratos, que a deficiência de magnésio não levou ao dano tecidual e não alterou a concentração do RNAm para o NF κ B, família de fatores de transcrição implicados na regulação da resposta inflamatória. Entretanto, ocorreu exacerbação da infiltração de neutrófilos e da permeabilidade vascular.

A FIGURA 5 apresenta um esquema representativo do efeito da deficiência de magnésio no exercício físico, considerando aspectos do metabolismo oxidativo, podendo inclusive levar à apoptose. A deficiência de

magnésio aumenta a concentração intracelular de íon Ca^{2+} , facilitando a produção de ácido úrico e radical $\text{OH}^\cdot$. Este último pode ser produzido na presença de ferro a partir da reação de Fenton. A $\text{OH}^\cdot$ também pode reagir com o NO que está em grande concentração e formar $\text{ONOO}^\cdot$. Com a infiltração de neutrófilos na célula afetada pela deficiência de magnésio, a NAD(P)H oxidase mantém-se ativa, produzindo radicais $\text{O}_2^\cdot$. Estes eventos levam à perturbações na estabilidade das membranas, facilitando o dano tecidual. Na persistência deste quadro, a apoptose pode ocorrer. Pode haver, também, comprometimento da função muscular, do mecanismo da contração e da atividade de enzimas do metabolismo energético, prejudicando, em conjunto com os outros fatores aqui citados, o desempenho físico. A resposta inflamatória está aumentada na deficiência de magnésio, sugerindo a existência de um ciclo vicioso entre este, inflamação e estresse oxidativo, que no desempenho físico traduz-se em lesões musculares mais sérias.

Apesar das evidências, o estresse oxidativo induzido pela deficiência de Mg pouco é estudado no âmbito da atividade física. Monteiro *et al.* (1997) observaram, no sangue de portadores de Síndrome de Down que fizeram treinamento aeróbio por 16 semanas, maior atividade da SOD no eritrócito e concentrações de TBARS plasmáticos menores em relação ao grupo controle. As concentrações de magnésio eritrocitário permaneceram menores após o treinamento. Em outro estudo, Laires *et al.* (1993) analisaram o sangue de corredores 3 minutos antes e após corrida de 40 minutos. Não foram encontradas diferenças significativas entre parâmetros de estresse oxidativo e da capacidade antioxidante. Já Leal *et al.* (2004) verificaram, em jogadores de futebol profissionais submetidos a 7 dias de suplementação de magnésio, que os valores de TBARS e de magnésio sérico diminuíram após teste em bicicleta ergométrica, sendo o magnésio capaz de exercer algum efeito indireto no estresse oxidativo induzido pelo exercício. Recentemente, Amorim *et al.* (2007) encontraram, na musculatura de ratos submetidos a 40% de deficiência de magnésio e ao exercício físico, menor atividade da SOD e da GPx.

FIGURA 5. Possíveis mecanismos pelos quais o estresse oxidativo induzido pela deficiência de magnésio prejudica o desempenho físico.

Este processo pode eventualmente levar à apoptose. Também é desencadeado um ciclo vicioso entre deficiência de magnésio, inflamação e estresse oxidativo (setas pontilhadas). ↑ = aumento, ↓ = diminuição, NO = óxido nítrico, $O_2^{\cdot -}$ = radical superóxido, $ONOO^{\cdot -}$ = peroxinitrito, $OH^{\cdot}$ = radical hidroxil, COX= ciclooxigenase, PLA_2 = prostaglandina A_2 .

5. METODOLOGIA

5.1. Animais

Foram utilizados 36 ratos machos, com peso médio inicial de 280 g, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, variedade Albinus, Rodentia, Mammalia). Os animais foram alojados em gaiolas individuais, mantidas no biotério, a 22 ± 2 °C, umidade 55 ± 10 %, com ciclo de luz claro/escuro invertido, com luz acesa às 19 horas.

Todos os procedimentos com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, segundo os princípios adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (ANEXO 1).

5.2. Rações experimentais

As dietas em pó foram preparadas em nosso laboratório de acordo com a formulação preconizada pela AIN-93 M (REEVES *et al.*, 1993). A formulação da dieta controle (500 mg Mg/kg de ração, ANEXO 2) foi modificada para a obtenção da dieta marginalmente deficiente (200 mg Mg/kg de ração, ANEXO 3) em magnésio (FEILLET-COUDRAY *et al.*, 2002). A mistura salina da dieta modificada foi reduzida em seu conteúdo de óxido de magnésio, sendo esta substituída por sacarose.

A concentração de magnésio encontrada nas dietas experimentais encontra-se na TABELA 5.

TABELA 5. Concentração de magnésio nas rações utilizadas no experimento. Valores expressos em média $\pm$ desvio-padrão (n=9).

Rações	Controle	Deficiência Marginal
Concentração (mg Mg/ kg de ração)	505 $\pm$ 35	204 $\pm$ 15

5.3. Desenho experimental

Os animais foram divididos em 4 grupos de 9 animais cada:

- grupo SED (controle);
- grupo MARG (sedentário e com dieta marginalmente deficiente em magnésio);
- grupo EX (treinado e com dieta controle);
- grupo EXMARG (treinado e com dieta marginalmente deficiente em magnésio);

O acesso dos animais à alimentação e água desmineralizada foi *ad libitum*, com o consumo de ração e a pesagem dos animais determinados três vezes por semana. O tempo total de experimentação dos animais foi de oito semanas, sendo as duas primeiras destinadas à adaptação ao ambiente e à alimentação, à base de dieta controle para todos os grupos. As seis restantes foram destinadas ao treinamento físico e ao consumo das dietas experimentais (FIGURA 6).

FIGURA 6. Desenho experimental.

O treinamento dos animais foi realizado em modelo de natação desenvolvido para esse fim (VIEIRA *et al.*, 1988), entre 9 e 11 horas da manhã. O período de treinamento foi de 6 semanas, 5 dias por semana, com duração diária e sobrecarga descritas no QUADRO 1. Durante a primeira semana os animais iniciaram um treinamento progressivo visando sua adaptação ao meio líquido. O protocolo de teste consiste de exercício de

natação com sobrecarga progressiva, sob a forma de pesos atados à cauda do animal, até chegar a 5 % do seu peso corporal.

QUADRO 1 – Protocolo de treinamento

SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3		
Dia	Tempo	Carga	Dia	Tempo	Carga	Dia	Tempo	Carga
Segunda	15 min	-	Segunda	20min	3%	Segunda	60 min	5%
Terça	15 min	-	Terça	20 min	3%	Terça	60 min	5%
Quarta	15 min	1%	Quarta	30 min	4%	Quarta	60 min	5%
Quinta	15 min	2%	Quinta	30 min	4%	Quinta	60 min	5%
Sexta	15 min	3%	Sexta	60 min	5%	Sexta	60 min	5%
SEMANA 4			SEMANA 5			SEMANA 6		
Dia	Tempo	Carga	Dia	Tempo	Carga	Dia	Tempo	Carga
Segunda	60 min	5%	Segunda	60 min	5%	Segunda	60 min	5%
Terça	60 min	5%	Terça	60 min	5%	Terça	60 min	5%
Quarta	60 min	5%	Quarta	60 min	5%	Quarta	60 min	5%
Quinta	60 min	5%	Quinta	60 min	5%	Quinta	60 min	5%
Sexta	60 min	5%	Sexta	60 min	5%	Sexta	Sacrifício	

5.4. Coleta do material biológico

Vinte e quatro horas após a última sessão de natação, os ratos foram anestesiados com hidrato de cloral, na proporção de 400 mg/kg peso corporal para sacrifício por hipovolemia. O sangue da *vena caudalis* de cada animal foi coletado em 2 tubos, um com e outro sem anticoagulante (heparina ROCHE®, 50 µL), para remoção de plasma e soro, respectivamente. O sangue foi centrifugado por 15 minutos a 3.000 rpm, a 4 °C e armazenado a -80 °C até o momento da análise.

Em seguida, o fígado e o cérebro foram perfundidos com solução salina (NaCl 0,9 %) por meio de punção cardíaca. Os membros inferiores foram separados do restante do corpo para retirada da tíbia, gastrocnêmio e

sóleo direito e esquerdo. Fígado, cérebro, rins, músculos gastrocnêmio e sóleo foram retirados, pesados, colocados imediatamente em nitrogênio líquido e estocados em freezer a -80°C para posterior análise bioquímica. Fígado, cérebro e rins foram separados em alíquotas diferentes para determinação de TBARS e magnésio total. O músculo sóleo direito, predominantemente oxidativo, e uma porção do músculo gastrocnêmio direito, de variedade glicolítica, foram separados para determinação da atividade das enzimas antioxidantes e TBARS. O sóleo esquerdo e a mesma porção retirada do gastrocnêmio direito foram coletadas do gastrocnêmio esquerdo para determinação de magnésio total. Coração e baço foram retirados apenas para pesagem, sendo descartados.

5.5. Obtenção das frações citossólica e mitocondrial do gastrocnêmio e sóleo

Foi retirado 1 g do gastrocnêmio direito longitudinalmente, com o auxílio de bisturi. Esta amostra do gastrocnêmio e o sóleo direito foram lavados em solução salina 0,9 %. O líquido foi desprezado e o procedimento repetido 3 vezes. Os tecidos foram colocados em nitrogênio líquido, pulverizados e pesados. Em seguida, os tecidos foram homogeneizados em homogeneizador tipo Potter-Elvehjem, com tampão de fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0.

As frações subcelulares de gastrocnêmio e sóleo foram preparadas pela adaptação do método de Loverde & Lehrer (1973), como pode ser visto na FIGURA 7. Após centrifugação, a 3.500 rpm por 20 minutos, a 4°C , o sobrenadante (fração S-1) foi transferido para um novo tubo, para ser novamente centrifugado a 12.500 g por 20 minutos, a 4°C . O sobrenadante desta segunda centrifugação (fração S-2) foi ressuspenso em tampão de fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0 e submetido à ultracentrifugação a 105.000 g por 60 minutos a 4°C . O sobrenadante resultante representa a fração citossólica (S-3). Já a fração mitocondrial (M-2) foi obtida a partir da ultracentrifugação da fração M-1 (105.000 g por 60 minutos a 4°C), que, por sua vez, foi isolada após a centrifugação da fração S-1.

FIGURA 7. Esquema de fracionamento sub-celular dos homogenatos de gastrocnêmio e sóleo. Adaptado de Loverde & Lehrer (1973).

5.6. Determinações experimentais

5.6.1. Creatina quinase (CK)

A atividade da CK foi determinada colorimetricamente com *kit* da LABTEST®. A amostra de soro foi incubada com o reagente de trabalho da CK que contém um anticorpo específico para a CK. A atividade foi medida pela seguinte seqüência de reações:

A CK catalisa a desfosforilação da creatina fosfato para produzir trifosfato de adenosina (ATP) que reage com a glicose na presença de hexoquinase, formando glicose-6-fosfato. A glicose-6-fosfato, na presença de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD), é oxidada a 6-fosfogluconato e reduz o NAD a NADH. A velocidade de incremento na absorbância medida em espectrofotômetro SHIMADZU a 340nm foi proporcional à atividade da CK na amostra.

5.6.2. Lactato desidrogenase (LDH)

A atividade da LDH foi determinada colorimetricamente com *kit* da LABTEST®, de acordo com a seguinte reação:

A LHD catalisa a conversão do piruvato a lactato na presença de NADH. O decréscimo da absorbância medida em espectrofotômetro SHIMADZU a 340nm devido à oxidação do NADH foi proporcional à atividade da LDH na amostra.

5.6.3. Superóxido dismutase (SOD)

Foi determinada espectrofotometricamente em adaptação do método de McCord & Fridovich (1969), nas frações citossólica e mitocondrial das amostras de gastrocnêmio e sóleo. O sistema xantina/xantina oxidase foi usado para gerar o ânion superóxido. Este ânion produziu a reação do citocromo c, o qual foi monitorado em espectrofotômetro SHIMADZU a 550 nm e a 25 °C. A superóxido dismutase da amostra reduzida removeu o ânion superóxido e produziu inibição da redução. O valor desta redução foi usado como leitura da atividade enzimática.

A concentração de xantina oxidase (SIGMA®) a ser utilizada na reação foi determinada em um meio de reação, sem amostra, de modo a obter uma variação na absorbância a 550 nm de 0,025 a 0,030 por minuto.

O meio de reação conteve citocromo c (SIGMA®) 100 µmol, xantina 500 µmol, EDTA (MERCK®) 1 mM e KCN (MERCK®) 200 µM em tampão de fosfato de potássio (SINTH®) 0,05 M pH 7,8 e 15 µL de fração citossólica das amostras de gastrocnêmio e sóleo.

Uma unidade (U) é definida como a atividade da enzima que promove 50% de inibição da reação da xantina a 25 °C em pH 7,8.

5.6.4. Catalase (CAT)

A atividade da catalase foi determinada pela adaptação do método de Beutler (1975), baseado na decomposição de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em hidrogênio e água. A velocidade de decomposição do H₂O₂ pela enzima foi quantificada por meio do decréscimo de absorbância em espectrofotômetro SHIMADZU a 230 nm a 37 °C. O coeficiente de extinção molar nestas condições é 0,0071 nM⁻¹.cm⁻¹.

O meio de reação conteve Tris HCl (SYNTH®), 1 M EDTA (MERCK®) 5 mM pH 8,0, H₂O₂ (MERCK®) 10 mM e quantidades variáveis de fração citossólica das amostras de gastrocnêmio e sóleo.

Uma unidade (U) de catalase corresponde a atividade da enzima que hidroliza 1 μmol de H_2O_2 por minuto a 37 °C em pH 8,0.

5.6.5. Glutathione peroxidase (GPx)

A atividade da GPx nas frações citossólica e mitocondrial das amostras de gastrocnêmio e sóleo foi determinada pela adaptação do método espectrofotométrico de Sies (1979). Tal metodologia requer peróxido de hidrogênio como substrato e glutathione redutase e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) como indicador enzimático. A atividade foi lida em espectrofotômetro SHIMADZU UV VIS 1240 a 340 nm, a 30 °C. O coeficiente de extinção molar nestas condições é $6,22 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{nM}^{-1}$.

O método se baseia na medida do decréscimo de absorbância promovido durante a oxidação do NADPH, durante a redução da glutathione oxidada catalisada pela glutathione redutase. A velocidade de oxidação do NADPH é proporcional à velocidade de produção da glutathione reduzida em presença de peróxido catalisado pela glutathione peroxidase.

O meio de reação conteve GSH (SIGMA-ALDRICH®) 0,1 M, glutathione redutase (Gr; SIGMA-ALDRICH®) 0,1 U/mL, peróxido de t-butil (ALDRICH®) 0,5 mM, NADPH (SIGMA®) 20 mM, tampão fosfato de potássio 0,1 M EDTA (MERCK®) 5 mM pH 7,0 e 10 μL de fração citossólica das amostras de gastrocnêmio e sóleo.

Uma unidade de enzima (U) é definida como a atividade da enzima que oxida 1 μmol de NADPH por minuto a 30 °C em pH 7,0.

5.6.6. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Com a finalidade de analisar o nível de peroxidação lipídica do fígado, cérebro e rim dos animais estudados, foi determinada nestes tecidos a

concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em adaptação do método de Winterbourn *et al.* (1985).

Após a retirada de secções de fígado, cérebro ou rim, as amostras foram lavadas em solução salina 0,9 %. O líquido foi desprezado e o procedimento repetido 3 vezes. As amostras foram então colocadas em nitrogênio líquido, pulverizadas e pesadas. Em seguida, os tecidos foram homogeneizados em homogeneizador tipo Potter-Elvehjem, com tampão de fosfato de potássio 0,1 M pH 7,0 e centrifugados por 3.500 rpm por 20 minutos a 4 °C.

Uma alíquota de 500 µL deste homogenato foi misturada com 500 µL de ácido clorídrico (MERCK®) a 25 %, 45 µL de butilhidroxitolueno (SYNTH®) a 2% e 500 µL ácido tiobarbitúrico (SIGMA®) a 1 % (diluído em hidróxido de sódio a 0,05M) e incubado em água fervente por 10 minutos. Após esfriamento em gelo, 1,5 mL de n-butanol (SYNTH®) foi adicionado. A camada orgânica foi coletada após centrifugação a 4.000 g por 10 minutos, a 5 °C. A absorbância foi medida a 532 nm e comparada com uma curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (MERCK®). Os dados foram expressos em µmol MDA/mg de proteína.

5.6.7. Proteína

A concentração de proteínas nas diversas frações celulares e teciduais foi determinada a partir do método de Lowry *et al.* (1951). O princípio consiste na hidrólise alcalina das proteínas da amostra e na formação de um complexo de cor azul, a partir da reação com o reagente de *Folin-Ciocalteu* (MERCK®). Assim, a intensidade da coloração deste complexo é proporcional à concentração de proteína da amostra. A leitura foi realizada em comprimento de onda de 660 nm em espectrofotômetro UV (Shimadzu mini 1240). A quantidade de proteína da amostra foi calculada a partir de curva padrão de albumina de soro bovino SIGMA®.

5.6.8. Magnésio total

A curva de calibração do aparelho foi preparada utilizando-se como padrão de magnésio TRITISOL - MERCK®, diluído com ácido nítrico SYNTH® a 1 % nas concentrações de 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,5 e 10,0 µg / mL. A leitura foi feita em espectrofotômetro de absorção atômica (AAS VARIAN®), utilizando-se lâmpada de catodo oco específica para magnésio, nas seguintes condições: comprimento de onda 202.6 nm, fenda 1,3 nm e chama oxidante de ar/acetileno (AMORIM, 2002).

Tanto nas amostras como nas curvas padrão foi adicionada uma solução de óxido de lantânio para a obtenção de uma concentração final de 0,1 % de lantânio, a fim de que fosse reduzida a possibilidade de interferência de íons H⁺ nas leituras.

Os resultados foram expressos em miligrama por grama de tecido integral (µg/g). No caso das rações experimentais os valores determinados foram expressos em mg Mg/kg de ração.

5.6.9. Magnésio sérico e eritrocitário

O método utilizado foi uma adaptação do método de Whitehouse *et al.* (1982) e de Deuster *et al.* (1987).

A curva de calibração do aparelho foi preparada utilizando-se como padrão de magnésio TRITISOL - MERCK®, diluído com ácido nítrico SYNTH® a 1% nas concentrações de 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 3,0 µg/ mL. A leitura foi feita em espectrofotômetro de absorção atômica (AAS VARIAN®), utilizando-se lâmpada de catodo oco específica para magnésio, nas seguintes condições: comprimento de onda 285,2 nm, fenda 1,2 nm e chama oxidante de ar/acetileno.

Assim como na determinação de Mg total, as amostras e as curvas padrão foram adicionadas com uma solução de óxido de lantânio para a obtenção de uma concentração final de 0,1 % de lantânio, a fim de que fosse reduzida a possibilidade de interferência de íons H⁺ nas leituras.

Os resultados para magnésio sérico foram expressos em miligramas por mililitro (mg/mL), enquanto para magnésio eritrocitário em microgramas por miligrama de hemoglobina ($\mu\text{g Mg/mgHb}$).

5.7. Análise Estatística

Os dados foram expressos em média $\pm$ desvio-padrão. As variáveis foram analisadas pelo teste *two-way* ANOVA (análise de variância), com o nível de ingestão de magnésio e o treinamento como fatores. Quando foi encontrado um efeito significativo da interação dos fatores, o teste de Bonferroni foi executado. Quando era encontrado efeito significativo no nível de ingestão de magnésio ou no treinamento sem significância na interação, o teste *one-way* ANOVA foi utilizado para comparar as médias dos grupos estudados.

6. RESULTADOS

6.1. Parâmetros biométricos

Na TABELA 6 encontram-se os valores para peso corporal no início e no fim do experimento, bem como o ganho de peso e o consumo de ração dos grupos experimentais durante o estudo. Pode-se observar que o peso inicial dos animais não apresentou diferença significativa entre os grupos, com valores próximos a 280 g.

Já o exercício resultou em diferenças significativas no peso final e no ganho de peso dos animais. Os grupos sedentários chegaram a 400 g no último dia de ensaio biológico, enquanto os exercitados ficaram cerca de 10% menores. Conseqüentemente, o ganho de peso dos grupos exercitados foi menor do que os grupos sedentários, com diferença significativa ($p=0,0035$). Em contrapartida, o consumo de ração não apresentou diferenças significativas, com a média de consumo dos grupos ficando em cerca de 20 g/dia.

TABELA 6. Peso corporal (g) no início e no fim do experimento, ganho de peso e consumo de ração durante o ensaio biológico. Média $\pm$ desvio-padrão.

Grupos	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g/dia)
SED	282 $\pm$ 9	400 $\pm$ 36 ^a	117 $\pm$ 30 ^a	20,4 $\pm$ 2,4
MARG	280 $\pm$ 12	396 $\pm$ 26 ^a	116 $\pm$ 18 ^a	20,1 $\pm$ 1,6
EX	280 $\pm$ 12	376 $\pm$ 21 ^b	96 $\pm$ 18 ^b	20,3 $\pm$ 1,8
EXMARG	280 $\pm$ 11	371 $\pm$ 18 ^b	92 $\pm$ 19 ^b	20,4 $\pm$ 1,3
Maior efeito				
(p)				
Magnésio	0,7075	0,6455	0,7187	0,9007
Exercício	0,7164	0,0089	0,0035	0,8876
Interação	0,7456	0,9532	0,8131	0,6840

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo)
Valores de p<0,05 nas colunas com letras sobrescritas diferentes(^{a,b})

Os dados referentes ao peso de tecidos e órgãos são apresentados na TABELA 7. A massa dos órgãos foi significativamente maior no coração dos animais dos grupos EX e EXMARG, em relação aos restantes, com o exercício levando a este aumento. Para os outros tecidos não foram encontradas diferenças significativas quando os valores foram comparados entre si.

É possível notar que existe uma tendência do peso estar reduzido nos músculos gastrocnêmio e sóleo e no baço dos animais submetidos ao exercício, comparado-os ao grupo SED, assim como uma tendência de haver maior massa renal e cerebral do grupo EXMARG. No entanto, é necessário salientar que estas diferenças não foram significativas.

Efeito da deficiência dietética de magnésio no metabolismo oxidativo de tecidos de ratos submetidos a protocolo de treinamento periodizado

TABELA 7. Peso de tecidos (g) de animais dos grupos experimentais. Média $\pm$ desvio-padrão.

Grupos	Gastrocnêmio*	Sóleo*	Fígado	Rins*	Cérebro	Coração	Baço
SED	4,65 $\pm$ 0,35	0,283 $\pm$ 0,035	11,4 $\pm$ 1,7	2,50 $\pm$ 0,16	1,81 $\pm$ 0,18	1,05 $\pm$ 0,08 ^a	0,63 $\pm$ 0,06
MARG	4,50 $\pm$ 0,37	0,296 $\pm$ 0,054	11,0 $\pm$ 1,9	2,56 $\pm$ 0,23	1,82 $\pm$ 0,16	1,02 $\pm$ 0,10 ^a	0,70 $\pm$ 0,13
EX	4,37 $\pm$ 0,30	0,270 $\pm$ 0,039	11,5 $\pm$ 1,7	2,60 $\pm$ 0,33	1,81 $\pm$ 0,36	1,10 $\pm$ 0,07 ^b	0,62 $\pm$ 0,08
EXMARG	4,40 $\pm$ 0,33	0,289 $\pm$ 0,031	10,7 $\pm$ 0,9	2,63 $\pm$ 0,17	1,97 $\pm$ 0,05	1,10 $\pm$ 0,05 ^b	0,62 $\pm$ 0,10
Maior efeito							
(p)							
Magnésio	0,5973	0,2591	0,2886	0,5540	0,2232	0,5314	0,2533
Exercício	0,1027	0,4749	0,7730	0,2429	0,3331	0,0137	0,2486
Interação	0,4408	0,8243	0,7307	0,8036	0,3011	0,7837	0,2101

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo)

Valores de $p < 0,05$ nas colunas com letras sobrescritas diferentes(^{a,b})

(*) representam a soma do material do lado esquerdo com o direito

6.2. Indicadores de lesão muscular

As atividades séricas das enzimas CK e da LDH estão apresentadas na TABELA 8. A atividade da CK no grupo EX foi significativamente menor em relação aos outros grupos. O exercício foi o fator que apresentou efeito significativo nos resultados ($p= 0,0013$). Com relação à atividade da LDH houve efeito da interação entre a concentração de magnésio na dieta e o exercício ($p< 0,0001$). O grupo EXMARG apresentou maior atividade da enzima no soro do que os animais dos grupos sedentários, diferindo significativamente dos demais grupos. O grupo EX não apresentou diferenças entre os grupos SED e MARG, porém a sua atividade sérica de LDH mostrou-se significativamente menor em comparação ao grupo EXMARG.

TABELA 8. Atividade da creatina quinase (CK) e da lactato desidrogenase (LDH) no soro dos animais dos grupos experimentais. Média $\pm$ desvio-padrão.

Grupos	CK (U/L)	LDH (U/L)
SED	1710 $\pm$ 165 ^a	1089 $\pm$ 229 ^a
MARG	1428 $\pm$ 334 ^a	848 $\pm$ 220 ^a
EX	854 $\pm$ 319 ^b	857 $\pm$ 219 ^a
EXMARG	892 $\pm$ 284 ^a	1333 $\pm$ 213 ^b
Maior efeito (p)		
Magnésio	0,4579	0,1239
Exercício	0,0013	0,1001
Interação	0,3342	<0,0001

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo)

Valores de $p<0,05$ nas colunas com letras sobrescritas diferentes^(a,b,c)

6.3. Atividade de enzimas antioxidantes na musculatura esquelética

A atividade de enzimas antioxidantes no gastrocnêmio e sóleo está representada nas FIGURAS 8 a 17. É interessante observar que tanto no citossol como na mitocôndria dos tecidos analisados (em valores absolutos) a atividade de todas as enzimas é maior no músculo sóleo do que no gastrocnêmio.

A atividade de superóxido dismutase no gastrocnêmio e sóleo está representada nas FIGURAS 8 a 11. A atividade da SOD na fração citossólica do gastrocnêmio foi significativamente maior no grupo EX, com efeito da interação entre a ingestão de magnésio e o treinamento ($p=0,0189$). No grupo EXMARG a atividade da SOD não apresentou diferenças significativas em relação ao SED (FIGURA 8).

FIGURA 8. Atividade da superóxido dismutase (U SOD/mg proteína) na porção citossólica do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais. SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo). Valores de $p<0,05$ (^{a,b}).

Na fração mitocondrial do mesmo músculo (FIGURA 9) houve aumento significativo, tendo os grupos EX e EXMARG apresentado atividade da SOD 400% maior em relação aos grupos SED e MARG.

FIGURA 9. Atividade da superóxido dismutase (U SOD/mg proteína) na porção mitocondrial do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais. SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=6 animais/grupo). Valores de p<0,05 (a,b).

Diferente do que ocorreu no citossol das amostras de gastrocnêmio analisadas, no sóleo foi o grupo EXMARG que mostrou diminuição significativa da atividade da SOD, sendo este valor 400% menor que o grupo SED (FIGURA 10).

FIGURA 10. Atividade da superóxido dismutase (U SOD/mg proteína) na porção citossólica do sóleo de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo). Valores de p<0,05 (a,b,c).

Na fração mitocondrial do sóleo (FIGURA 11), a atividade da SOD foi 300% maior nos grupos exercitados em comparação aos grupos sedentários. Em termos absolutos, a atividade da SOD mitocondrial apresentou valores 200 a 1.000% menores em comparação à sua atividade na fração citossólica do sóleo.

FIGURA 11. Atividade da superóxido dismutase (U SOD/mg proteína) na porção mitocondrial do sóleo de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=6 animais/grupo). Valores de $p < 0,05$ (^{a,b}).

A atividade da enzima catalase nos músculos analisados encontra-se descrita nas FIGURAS 12 e 13. No citossol do gastrocnêmio (FIGURA 12), o grupo EX apresentou valor 300% maior em relação ao grupo SED.

FIGURA 12. Atividade da catalase (UCAT/mg proteína) na porção citossólica do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo). Valores de $p < 0,05$ (^{a,b}).

O sóleo dos animais estudados também exibiu atividade da CAT significativamente maior no grupo EX, com atividade 300% maior que o grupo SED e com efeito do exercício físico (FIGURA 13).

FIGURA 13. Atividade da catalase (UCAT/mg proteína) na porção citossólica do sóleo de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo). Valores de $p < 0,05$ (^{a,b}).

Finalmente, a atividade da glutathione peroxidase é mostrada nas FIGURAS 14 a 17. Na FIGURA 14, a porção citossólica do gastrocnêmio dos animais analisados não apresentou diferenças significativas.

FIGURA 14. Atividade da glutathione peroxidase (UGPx/mg proteína) na porção citossólica do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas.

Diferentemente, a fração mitocondrial do gastrocnêmio apresentou aumento significativo da GPx, tendo os grupos exercitados demonstrado atividade enzimática maior do que os animais dos grupos sedentários (FIGURA 15).

FIGURA 15. Atividade da glutathione peroxidase (UGPx/mg proteína) na porção mitocondrial do gastrocnêmio de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=6 animais/grupo). Valores de $p < 0,05$ (^{a,b}).

No que diz respeito ao músculo sóleo, a atividade da GPx foi maior do que no gastrocnêmio, em ambos os compartimentos analisados. Na fração citossólica houve aumento significativo na atividade da GPx. O grupo EX apresentou atividade de GPx 150% maior que aquela observada no grupo SED.

FIGURA 16. Atividade da glutathione peroxidase (UGPx/mg proteína) na porção citossólica do sóleo de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo). Valores de $p < 0,05$ (^{a,b}).

Na FIGURA 17, a atividade da GPx na mitocôndria do sóleo apresentou aumento significativo em relação ao grupo SED. Os animais exercitados demonstraram ter quase o dobro de atividade enzimática em relação aos animais sedentários.

FIGURA 17. Atividade da glutathione peroxidase (UGPx/mg proteína) na porção mitocondrial do sóleo de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=6 animais/grupo). Valores de $p < 0,05$ (^{a,b}).

6.4. Peroxidação lipídica em tecidos dos animais estudados

Com relação à peroxidação lipídica, observou-se que a concentração de TBARS nos tecidos estudados não diferiu entre os grupos, com exceção do cérebro (TABELA 9). No gastrocnêmio, apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas, houve tendência dos grupos exercitados exibirem maior concentração de TBARS em comparação aos animais sedentários. Já no fígado e nos rins pode ser observado menor valor para peroxidação lipídica nos grupos exercitados em relação aos grupos

sedentários. Finalmente, o cérebro apresentou interação positiva entre a ingestão de magnésio e o exercício ($p=0,0055$), tendo o grupo EX mostrado níveis de TBARS menores do que o grupo MARG. Este último, por sua vez, apresentou-se com maior peroxidação lipídica do que o grupo EXMARG.

TABELA 9. Concentração de TBARS (μmol MDA/mg proteína) no gastrocnêmio, fígado, rim e cérebro dos animais dos grupos experimentais. Média $\pm$ desvio-padrão.

Grupos	Gastrocnêmio	Fígado	Rins	Cérebro
SED	0,065 $\pm$ 0,021	0,11 $\pm$ 0,02	0,38 $\pm$ 0,10	0,08 $\pm$ 0,02 ^a
MARG	0,056 $\pm$ 0,017	0,11 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,11	0,25 $\pm$ 0,09 ^b
EX	0,073 $\pm$ 0,014	0,09 $\pm$ 0,02	0,30 $\pm$ 0,08	0,07 $\pm$ 0,02 ^a
EXMARG	0,062 $\pm$ 0,019	0,11 $\pm$ 0,03	0,31 $\pm$ 0,06	0,13 $\pm$ 0,06 ^a
Maior efeito (p)				
Magnésio	0,1042	0,2272	0,9129	<0,0001
Exercício	0,2503	0,6000	0,0709	0,0012
Interação	0,8682	0,3847	0,6428	0,0055

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo)

Valores de $p<0,05$ nas colunas com letras sobrescritas diferentes(^{a,b,c})

6.5. Parâmetros relativos ao estado nutricional do magnésio

Os parâmetros séricos e eritrocitários relativos ao magnésio são apresentados nas FIGURAS 18 e 19. As concentrações de magnésio no soro foram maiores no grupo EX, com efeito significativo da ingestão de magnésio (FIGURA 18).

FIGURA 18. Concentração de magnésio no soro de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo). Valores de $p < 0,05$ (^{a,b}).

Na FIGURA 19, pôde-se observar que o grupo SED apresentou valores 30% maiores do que os demais grupos.

FIGURA 19. Concentração de magnésio no eritrócito de animais dos grupos experimentais.

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo). Valores de $p < 0,05$ (^{a,b}).

Na análise dos resultados da TABELA 10 pôde ser observado que a concentração de magnésio total dos tecidos estudados varia entre os grupos, sendo que somente o fígado não mostrou diferenças significativas. No gastrocnêmio, na qual a interação entre ingestão de magnésio e exercício foi significativa ($p=0,0012$), a concentração de magnésio do grupo EX foi 70% maior do que no grupo SED. No sóleo, a interação entre dieta e exercício também foi significativa ($p=0,0024$), com menor concentração de magnésio no grupo EX. No grupo SED foi observada concentração de magnésio total cerca de 300% maior em comparação aos demais grupos.

Nos rins, a concentração de magnésio foi significativamente maior nos grupos EX e EXMARG. Finalmente, no cérebro foi observada concentração de magnésio 75% maior no grupo EX em comparação ao grupo SED. O grupo EXMARG apresentou concentração de magnésio total apenas 10% menor em comparação ao grupo MARG, não apresentando diferenças significativas.

Efeito da deficiência dietética de magnésio no metabolismo oxidativo de tecidos de ratos submetidos a protocolo de treinamento periodizado

TABELA 10. Concentração de magnésio total ($\mu\text{g Mg/mg}$ base seca) no gastrocnêmio, sóleo, fígado, rim e cérebro dos animais dos grupos experimentais.

Grupos	Gastrocnêmio	Sóleo	Fígado	Rins	Cérebro
SED	193 ± 18^a	5016 ± 100^a	336 ± 32	529 ± 13^a	390 ± 15^a
MARG	341 ± 14^a	1655 ± 41^b	645 ± 25	510 ± 14^a	537 ± 14^a
EX	1209 ± 48^b	1545 ± 30^b	557 ± 12	733 ± 77^b	679 ± 75^b
EXMARG	633 ± 35^a	1567 ± 30^b	566 ± 13	724 ± 69^b	487 ± 12^a
Maior efeito (p)					
Magnésio	0,0438	0,0027	0,0864	0,8126	0,7484
Exercício	p<0,0001	0,0016	0,8544	0,0021	0,1013
Interação	0,0012	0,0024	0,0966	0,9348	0,0228

SED – dieta controle, MARG – dieta deficiente marginal, EX – dieta controle + exercício, EXMARG – dieta deficiente marginal + exercício (n=9 animais/grupo)

Valores de $p < 0,05$ nas colunas com letras sobrescritas diferentes^(a,b,c)

7. DISCUSSÃO

O presente trabalho estudou o efeito da ingestão de uma dieta deficiente em magnésio sobre alguns parâmetros indicativos do metabolismo oxidativo de ratos submetidos a exercício físico regular. A hipótese seria que a deficiência de magnésio alteraria as adaptações ao estresse oxidativo proporcionadas pelo exercício físico regular. Além disso, ainda são escassos os trabalhos que relatam o efeito de uma deficiência marginal de magnésio no organismo. Era esperado que a deficiência de magnésio proporcionasse aos animais uma série de manifestações físicas, como hiperemia nas orelhas e patas, edema, alopecia e lesões na pele. Deveria ocorrer interação significativa entre o exercício e o magnésio dietético. Também era esperado que a deficiência de magnésio afetasse a composição celular de diversos tecidos, levando inclusive à diminuição do tamanho celular.

Nossa hipótese de trabalho visava analisar a relação do magnésio com a atividade física e a deficiência de magnésio como um fator predisponente para o aumento de danos oxidativos. Mesmo sendo reconhecido que a prática regular de exercício físico aumenta a produção de RL, e também amplifica mecanismos antioxidantes capazes de proteger o organismo, foi difícil encontrar trabalhos que verificassem se a deficiência de magnésio seria capaz de alterar esta sinalização e aumentar a ação deletéria de compostos pró-oxidativos. Os trabalhos disponíveis buscaram diferenças no estado nutricional relativo ao magnésio e no metabolismo oxidativo antes e após o treinamento físico, fosse agudo ou crônico. O magnésio é importante para a ativação de enzimas como a hexoquinase, envolvida no metabolismo da glicose, ou mesmo ATPases, imprescindíveis para o aproveitamento de energia do ATP. Além disso, por meio de mecanismos ainda desconhecidos, o magnésio mantém o equilíbrio entre as defesas antioxidantes e a produção de RL, fato que pareceu interessante na análise da deficiência de magnésio e o metabolismo oxidativo no exercício físico regular. O protocolo de exercício aplicado não poderia ser extenuante, visto que esta variedade de atividade física também poderia levar a um

quadro de estresse oxidativo, tornando difícil distinguir o efeito da atividade física do efeito da deficiência de magnésio.

Um aspecto fundamental a ser definido para o presente trabalho seria o nível de deficiência de magnésio aplicado. Os estudos com animais usualmente são conduzidos com dietas contendo de 30 a 100 mg Mg/kg de ração. Alguns artigos publicados na última década sobre a avaliação do estado nutricional relativo ao magnésio classificam a ingestão de uma dieta marginalmente deficiente em magnésio para roedores como aquela contendo 200 mg Mg/kg de ração (FEILLET-COUDRAY *et al.*, 2002; FEILLET-COUDRAY *et al.*, 2003), valor este que foi usado no presente estudo.

Na elaboração da ração, fez-se necessário observar se a mudança na concentração de magnésio na dieta afetaria a composição centesimal e o valor calórico da ração experimental. Com esta finalidade, foi estimada a quantidade de sacarose excedente que a dieta deficiente em magnésio deveria ter. O conteúdo de magnésio total foi obtido de acordo com o desejado, com a ração controle contendo 500 mg Mg/kg de ração e a ração marginalmente deficiente em magnésio apresentando 200 mg Mg/kg de ração. Pôde-se verificar que para cada kg de ração preparada iriam 35 g de mistura salina; na dieta controle encontra-se 7,34 g de sacarose provenientes da mistura salina; enquanto que na dieta deficiente em magnésio são estimados 7,85 g de sacarose da mistura salina. Desta forma, tem-se um excedente de sacarose de 0,51 g /kg de ração na ração deficiente em comparação à dieta controle. Considerando que o consumo da ração dos animais dos grupos ficou em torno de 20 g/dia, os animais com dieta deficiente em magnésio ingeriram 0,01 g sacarose/dia a mais em relação a dieta controle. Convertendo em calorias, este excedente não ultrapassa 0,04 kcal/dia, valor este que não proporciona sérias diferenças na ingestão das duas dietas.

Verificou-se ainda o surgimento de sinais físicos da deficiência de magnésio no decorrer do experimento. Depois de uma semana consumindo as dietas experimentais, os roedores que ingeriram a dieta marginalmente

deficiente em magnésio já se mostraram mais irritadiços e propensos a agressão. Este quadro persistiu até o final do experimento. Outra diferença entre os grupos foi o aspecto do soro após a centrifugação do sangue no dia do sacrifício. Os grupos MARG e EXMARG apresentaram soro com “aspecto leitoso”, em contraste com as amostras dos grupos SED e EX, que se mostravam translúcidas. A idade dos animais também pode ter colaborado para estes resultados, visto que foram utilizados animais com 60 dias de idade, ao invés de animais recém desmamados. Segundo Mazur *et al.* (2007) animais recém desmamados, após 7 dias com dieta deficiente em magnésio, apresentavam leve hiperemia nas orelhas e patas, assim como esplenomegalia e hiperlipidemia sangüínea (que dá ao sangue o aspecto “leitoso”).

Na verdade, o que pôde ser notado ao final do experimento, e que também refletiu nos resultados, foi o menor peso dos animais que se exercitaram. Os grupos EX e EXMARG apresentaram déficit de -6 e -7% no seu peso final, respectivamente, em comparação ao grupo SED. Este fato é atribuído ao aumento no gasto energético provocado pelo exercício físico. Ao contrário dos dados na literatura (WINDHAUSER *et al.*, 1991; BRILLA *et al.*, 1989), o teor de magnésio na dieta não interferiu significativamente nos resultados obtidos. Resultados semelhantes foram encontrados por Schuette *et al.* (1990), os quais também não encontraram, após 75 dias de ensaio, efeito do nível de magnésio ingerido sobre o ganho de peso dos animais ou a ocorrência de sinais clínicos da deficiência de magnésio. Visto que não houve alteração no consumo de ração entre os grupos, este fator não influenciou o peso final. Apesar de usualmente se acrescentar um grupo *pair fed* consumindo dieta controle na mesma proporção que um grupo deficiente em magnésio (HSU *et al.*, 1982; YEH & ALOIA, 1991), testes preliminares deste mesmo grupo de pesquisa mostraram que isto não seria necessário (AMORIM *et al.*, 2006), devido ao fato dos animais terem ingerido igual quantidade de ração.

Em relação à massa dos tecidos dos animais foi observada apenas tendência dos animais do grupo MARG apresentarem o baço 11% maior do

que o grupo SED. Também chamou a atenção os resultados relativos ao músculo sóleo e ao cérebro. Nestes tecidos, mesmo não havendo diferenças significativas, os grupos MARG e EXMARG apresentaram massa muscular 5 e 2% maior, respectivamente, em relação ao SED, assim como massa cerebral 1 e 9% maior do que o grupo SED. Aparentemente, existem mecanismos adaptativos à deficiência de magnésio que vão além da perda do mineral, como o acúmulo de água nos tecidos em déficit.

No caso de outros tecidos musculares, a maior demanda de bombeamento sanguíneo do exercício físico fez com que a massa do tecido cardíaco fosse 5% maior nos grupos EX e EXMARG em relação ao grupo SED. A determinação da massa dos tecidos de animais submetidos à deficiência de magnésio não é relatada na literatura especializada, tornando limitada a comparação de resultados. George & Heaton (1975) encontraram diminuição na concentração de magnésio total e aumento no conteúdo de água do fígado, rins, coração e musculatura esquelética de animais deficientes em magnésio em comparação ao grupo controle. Todavia, estudos a respeito de situações em que os animais são submetidos a algum tipo de estresse físico (exercício, restrição calórica) pode ser uma base de comparação para os resultados aqui apresentados. Donato *et al.* (2006) não encontraram diferenças significativas entre a massa do fígado, sóleo e gastrocnêmio de animais submetidos à restrição calórica e o grupo controle.

Considerando o resultado tanto da CK como da LDH, o grupo EX apresentou atividade sérica menor do que o grupo SED. A adaptação dos animais do grupo EX ao exercício físico fez com que suas defesas antioxidantes estivessem mais ativas do que no grupo SED, prevenindo a lesão muscular e o conseqüente rompimento do sarcolema. Somente o exercício teve efeito significativo nos resultados da atividade da CK sérica. Em contraste, no grupo EXMARG, a atividade sérica da CK indica a prevalência da ocorrência de dano muscular. Apesar disto, o resultado da CK remete à idéia que a carência de magnésio deixou a musculatura exercitada mais suscetível a alterações estruturais importantes. Laires *et al.* (1993) encontraram correlação negativa ($r=-0,88$) entre as concentrações

plasmáticas de magnésio e CK antes de indivíduos participarem de uma corrida de 40 minutos, o que não se repetiu após o esforço físico. Mayhew *et al.* (2005) observaram aumento da atividade da CK sérica 24 horas após a última sessão de esforço no treinamento de força com um intervalo de 1 minuto entre as séries, sugerindo o efeito do tempo entre as séries de exercício sobre o dano muscular. Já Lee & Clarkson (2003) só assinalaram diferenças significativas após 48 horas do término da sessão de exercício excêntrico.

Quanto à atividade da enzima LDH, os resultados corroboram os da CK, mostrando que houve aumento de 22% no soro dos animais do grupo EXMARG, em comparação ao grupo SED, e que a atividade da LDH do grupo EX foi 40% menor que a mesma no grupo EXMARG. É interessante ressaltar que para este parâmetro ocorreu interação significativa entre a deficiência de magnésio e o exercício físico, que fica nítida na diferença dos resultados entre o grupo EX e EXMARG. Mesmo que a LDH seja uma enzima encontrada em muitos tecidos do corpo, pode-se deter especificamente sobre o tecido muscular devido à sua demanda na importante execução da atividade física. Considerando o resultado assinalado, a deficiência de magnésio aumenta a suscetibilidade a lesões em animais exercitados. Se este fato realmente acontece, maior é o tempo de recuperação do músculo nestas condições em relação a animais com dieta adequada em magnésio, e mais persistente será a lesão à medida que ocorrem mais repetições do exercício.

A atividade das enzimas antioxidantes foi determinada na porção glicolítica do músculo gastrocnêmio e no sóleo, um músculo predominantemente oxidativo. Desta forma, verificaram-se diferenças na atividade antioxidante entre variedades distintas de fibras musculares. Na busca de um possível efeito diferente da deficiência de magnésio sobre a atividade das enzimas antioxidantes nos compartimentos citossólico e mitocondrial das células musculares adaptadas ao treinamento, a atividade da SOD e da GPX foi determinada separadamente nestas duas frações celulares. A atenção especial para estas frações celulares diz respeito à

importância do magnésio como cofator enzimático. Na mitocôndria, o magnésio é cofator enzimático para a isocitrato desidrogenase, enzima participante do ciclo de Krebs e doadora de parte do NADPH consumido na reação da GPx. No citoplasma, o magnésio é cofator de enzimas, como a glutamyl cisteína sintetase e a glutathione sintetase, enzimas catalisadoras da ressíntese de GSH (REGAN & GUO, 2001), bem como a hexoquinase e a piruvato quinase, importantes para a glicólise. Teoricamente, a carência de magnésio faria com que a atividade destas enzimas diminuísse, comprometendo a metabolização da cadeia carbônica da glicose e o sistema de defesa antioxidante, seja por impedir a síntese de GPx ou por não prover NADPH suficiente para reações de oxido-redução. A deficiência de magnésio interfere na função mitocondrial, causando alterações no metabolismo energético que podem interferir em aspectos do funcionamento celular, inclusive a síntese protéica.

Foi possível verificar que a atividade enzimática na fração mitocondrial das amostras de gastrocnêmio e sóleo dos grupos exercitados apresentou aumento significativo em maior proporção do que na porção citossólica destes tecidos. As exceções foram a SOD e a GPX no músculo sóleo, na qual a atividade enzimática foi 10 vezes menor e semelhante às suas respectivas frações citoplasmáticas. Os resultados para a atividade da SOD e GPx na mitocôndria diferiram significativamente entre os grupos sedentários e exercitados devido exclusivamente ao exercício físico, já que a deficiência de magnésio não modificou suas defesas antioxidantes ou acentuou a produção de RL. Esta constatação está de acordo com o tipo de atividade física realizada, predominantemente aeróbia, fazendo com que ocorra maior demanda dos sistemas de obtenção de energia da mitocôndria. Araújo Jr *et al.* (2006), fazendo uso de protocolo semelhante ao do presente estudo, verificaram que a atividade da citrato sintase, uma enzima integrante do ciclo do ácido tricarboxílico, foi significativamente maior nos animais exercitados em relação ao grupo controle. Utilizando o mesmo protocolo de exercício da presente pesquisa, Rossi (2001) também encontrou aumento na

atividade da citrato sintase de animais exercitados por 6 semanas em comparação ao controle.

Já na fração citoplasmática, as diferenças significativas entre os grupos resultavam da interação entre a ingestão de magnésio e exercício físico, tanto para SOD como para GPx e CAT. As exceções foram para a concentração da GPx no citossol do músculo gastrocnêmio, no qual não houve diferenças, e a CAT no sóleo, no qual apenas o exercício levou ao aumento significativo nos grupos EX e EXMARG. A musculatura do grupo EX mostrou melhor proteção contra agentes pró-oxidativos.

A atividade da SOD na fração mitocondrial (Mn-SOD) dos músculos gastrocnêmio e sóleo foi significativamente maior nos grupos exercitados, sempre com significância do exercício físico. A diferença entre a atividade da SOD dos animais sedentários e exercitados é enorme, tendo em vista que a maior atividade desta enzima nos grupos exercitados pode significar uma resposta adaptativa à exposição exacerbada aos radicais $O_2^{\cdot -}$ provenientes da atividade física realizada, sem que a deficiência de magnésio tenha prejudicado suas defesas antioxidantes ou que tenha acentuado a síntese de RL. A atenuação de dano muscular pelo exercício físico está fortemente ligada à capacidade antioxidante aumentada do músculo e a sua habilidade em modular o estresse oxidativo proporcionado pelo exercício físico. Siu *et al.* (2004) estudaram o efeito do exercício físico regular nas adaptações da musculatura cardíaca e esquelética. Após 8 semanas de atividade física moderada, verificaram no sóleo dos animais treinados aumento de 64% da proteína para Mn-SOD em comparação aos animais do grupo controle, correlacionado negativamente com a atividade da enzima caspase-3, envolvida na apoptose.

Além disso, pôde-se observar no citossol do sóleo dos grupos MARG e EXMARG que a atividade da SOD foi significativamente menor que no grupo SED. Calviello *et al.* (1994) verificaram em ratos, após 8 semanas consumindo uma dieta severamente deficiente em magnésio, queda de 18% na atividade da Cu/ZnSOD (SOD citossólica) hepática em relação ao grupo controle. Mesmo que ainda não se conheça o mecanismo de ação, a

deficiência de magnésio pode estar impedindo a recuperação do DNA, visto que este mineral é importante em várias rotas dos processos de reparação conhecidos para o DNA (HARTWIG, 2001). Se o DNA permanecer danificado, e o nível de magnésio presente na célula afetada continuar baixo, a síntese das enzimas e de outros compostos antioxidantes certamente será prejudicada. Além disso, a maior síntese de ERO deve ter excedido a capacidade de detoxificação das enzimas antioxidantes, fazendo com que possivelmente se alterasse o estado oxidativo intracelular e/ou se modificasse os centros catalíticos das enzimas antioxidantes, conseqüentemente inibindo a ação enzimática. A deficiência marginal em magnésio não possibilitou adaptação muscular capaz de aumentar a concentração da SOD neste compartimento.

Já com relação à atividade da CAT, ambos os músculos estudados apresentaram aumento significativo no grupo EX. A CAT foi determinada apenas no citossol, visto que esta enzima não tem atividade na mitocôndria (dados não publicados). De fato, a atividade da CAT foi aumentada na medida que estivessem presentes no músculo altos níveis de H_2O_2 . Com a atividade diminuída da Cu/Zn-SOD no gastrocnêmio e no sóleo do grupo EXMARG, impedindo a conversão de $O_2^{\cdot -}$ em H_2O_2 , a deficiência de magnésio pode ter acentuado a produção de H_2O_2 na musculatura exercitada. Possivelmente, esta grande quantidade de H_2O_2 aumentada na musculatura exercitada e deficiente em magnésio veio dos peroxissomas, excedendo a atividade da CAT. Os peroxissomas são um dos principais pontos do consumo de oxigênio na célula e participam de diversas funções metabólicas que utilizam oxigênio, inclusive no equilíbrio oxidativo celular (VALKO *et al.*, 2007). Visto que a CAT está presente no peroxissoma, esta enzima seria então a responsável pela conversão do H_2O_2 em H_2O nos músculos dos animais do grupo EX, o que explicaria a sua atividade aumentada. De fato, a atividade da CAT costuma apresentar resultados diferentes após o treinamento ou o exercício agudo. Gündüz *et al.* (2004) encontraram no gastrocnêmio e sóleo de animais submetidos a 1 ano de treinamento a atividade da CAT significativamente menor do que no grupo

controle. Já Chang *et al.* (2007) verificaram, no gastrocnêmio e no quadríceps de animais treinados e deficientes em vitamina E, atividade da CAT semelhante à de animais sedentários e deficientes em vitamina E, com valores significativamente maiores do que no grupo controle.

A atividade da GPx foi maior na fração mitocondrial dos músculos estudados. Na fração citossólica do sóleo, esta atividade foi significativamente maior nos grupos exercitados do que nos sedentários. Novamente, o exercício teve efeito significativo sobre os resultados, assim como verificado em outros estudos (HAMMEREN *et al.*, 1992; LEEUWENBURGH *et al.*, 1997). Da mesma forma que a fração citossólica do presente estudo, Chang *et al.* (2007) não encontraram efeito significativo do exercício físico regular sobre a atividade da GPx no gastrocnêmio e no quadríceps dos animais.

O padrão de mudança da atividade da GPx citossólica dos músculos do grupo EXMARG sugere que o exercício causou um desequilíbrio entre a produção de ERO e as defesas antioxidantes, em oposição ao que ocorreu com o grupo EX. Este fenômeno foi semelhante ao que ocorreu com a SOD e a CAT, na mesma fração celular. Caso a Cu/Zn-SOD tenha menor atividade no sóleo, este músculo ficaria mais suscetível a uma produção acentuada de $O_2^{\cdot -}$, decorrente do exercício físico. Sem Cu/Zn-SOD ativa o suficiente para converter $O_2^{\cdot -}$ em H_2O_2 , não há substrato suficiente para CAT ou GPx, que já se apresentaram com atividade diminuída, facilitando assim a ação deste radical sobre o tecido muscular. De fato, a atividade da CK e da LDH do grupo EXMARG foi maior do que no grupo EX, o que pode indicar a ocorrência de lesão muscular, considerando a grande demanda do músculo na atividade física.

Um aspecto recorrente na atividade das enzimas antioxidantes é o fato da deficiência de magnésio não ser capaz de regular isoladamente a atividade das enzimas antioxidantes. Possivelmente, a maior produção de ERO ocorreu devido a infiltração de neutrófilos que, através da NADPH oxidase e da mieloperoxidase, aumentou a produção de radicais $O_2^{\cdot -}$ e HOCl, respectivamente. Além disso, o desencadeamento de processos

inflamatórios pode ter levado à maior expressão de iNOS, aumentando a concentração de NO intracelular que, por sua vez, pode ser convertido em NOOH⁻.

Estas fontes de RL citadas no último parágrafo merecem maior atenção no músculo gastrocnêmio, onde sua porção contendo fibras musculares glicolíticas está menos protegida nos animais do grupo EXMARG. Em outras palavras, a menor atividade de enzimas antioxidantes na atividade física deixa a musculatura destes animais desprotegida da formação de RL no exercício, tornando este mais difícil de ser realizado. Como só poderiam ser incluídos no trabalho animais que executassem a atividade física proposta integralmente, a obtenção da amostra do grupo EXMARG foi difícil, pois 35% dos animais deste grupo não conseguiam nadar todos os dias propostos. Ou seja, para os animais do grupo EXMARG a atividade física pareceu chegar mais próxima à exaustão em comparação ao grupo EX. O grupo EXMARG provavelmente recruta mais fibras glicolíticas para a execução de um esforço que o grupo EX realiza predominantemente com fibras oxidativas. Este fato também ajuda a explicar o maior ocorrência de dano muscular nos animais do grupo EXMARG.

Com relação à peroxidação lipídica, não foi possível encontrar as mesmas diferenças, apenas a tendência de maior concentração de TBARS na musculatura dos animais exercitados. Este resultado não é consistente com os marcadores de dano muscular (CK e LDH), que mostraram o aumento significativo das suas atividades no soro dos animais do grupo EXMARG. Radák *et al.* (1999) obtiveram resultados semelhantes, após treinar ratos por 9 semanas, não encontrando diferenças com o grupo controle nos níveis de TBARS no gastrocnêmio dos animais, porém os grupos treinados mostraram maior conteúdo de 8-OHdG no mesmo tecido. Aparentemente, o estresse oxidativo, como no exercício regular conduzido no presente estudo, age diferentemente sobre as macromoléculas ou seus sistemas de reparo. Possivelmente, se o protocolo de exercício fosse mais longo, as concentrações de TBARS destes grupos se tornariam significativamente diferentes.

Também foi determinada a concentração de TBARS nos tecidos hepático, renal e cerebral. O grupo EX apresentou menor conteúdo de TBARS no fígado, reafirmando o efeito adaptativo do exercício regular na proteção do organismo contra dano tecidual. Da mesma forma, Ogonovszky *et al.* (2005) também não encontraram variações significativas no nível de TBARS hepático de ratos exercitados moderadamente por 8 semanas quando comparados ao grupo controle. Provavelmente, o nível de ingestão de magnésio não permitiu que o grupo EXMARG sequer acompanhasse esta melhora. Nos rins, a análise da concentração de TBARS não é habitualmente realizada, porém, visto a sua importância na homeostase do magnésio, este tecido não poderia ser excluído. No caso dos rins, todos os grupos exercitados também apresentaram tendência a serem mais protegidos contra a peroxidação lipídica. Com menor conteúdo de TBARS, os rins dos animais exercitados podem reabsorver o magnésio, especialmente nos grupos EXMARG, que dependem da reabsorção renal para ajudar a diminuir o déficit deste mineral existente nos rins destes animais. Este fato é refletido também pela concentração de magnésio nos rins, que, nos grupos EX e EXMARG, têm 40% a mais do mineral em comparação ao grupo SED.

Já no cérebro, o conteúdo de TBARS diferiu entre os grupos de acordo com o nível de ingestão de magnésio, uma vez que os grupos SED e EX mostraram valores menores que os grupos MARG e EXMARG. Mais uma vez, o grupo EXMARG mostrou estar mais suscetível ao estresse oxidativo no exercício físico do que o grupo EX. O grupo EXMARG produziu excedente de 63% de TBARS além do grupo SED, enquanto o grupo EX reduziu em 12% o seu conteúdo de TBARS em comparação ao controle. O magnésio é transportado ativamente pela barreira hemato-encefálica mas, se por um longo período menores concentrações de magnésio estiverem disponíveis para o cérebro, os níveis de magnésio no líquido cefaloraquidiano serão reduzidos. A depleção de magnésio no cérebro facilita a saída de GSH para o espaço extracelular, além de prejudicar a sua ressíntese (REGAN & GUO, 2001).

No presente trabalho foram analisados parâmetros relativos ao estresse oxidativo e à deficiência dietética de magnésio em animais submetidos ao treinamento regular. Considerando os parâmetros séricos e eritrocitários relativos ao magnésio, somente o grupo EX mostrou diferença significativa entre os demais grupos para o magnésio sérico, enquanto para as concentrações eritrocitárias de magnésio somente o grupo SED apresentou diferenças em comparação aos demais grupos.

Ao menos para os grupos com dieta deficiente em magnésio era esperado que a concentração sérica e eritrocitária do mineral fosse menor do que nos grupos que ingeriram dieta controle. Ao verificar o efeito da deficiência de magnésio sobre o exercício físico, Brilla *et al.* (1989) observaram que a concentração de magnésio no plasma e no eritrócito de animais sedentários e exercitados por 6 semanas que consumiram uma dieta com apenas 80 mg Mg/kg foi significativamente menor do que nos animais com dieta controle, exercitados ou não. Estando carente de magnésio ou não, o organismo submetido ao exercício físico apresenta mecanismos para a manutenção das concentrações de magnésio nos tecidos de trocas rápidas.

Em diversos estudos relacionados à deficiência de magnésio, é possível se observar diferenças nos valores obtidos dos parâmetros eritrocitários de animais submetidos à dieta controle e à dieta deficiente em magnésio. Predominantemente, é registrada menor concentração de magnésio no eritrócito (HSU *et al.*, 1982; ROCK *et al.*, 1994). Mais recentemente, Feillet-Coudray *et al.* (2006) encontraram, em camundongos, redução nos níveis eritrocitários de magnésio de 15 e 61% em animais com dieta marginalmente deficiente (100 mg Mg /kg de ração) e deficiente (30 mg Mg /kg de ração) em magnésio, respectivamente, em relação ao controle (1.000 mg Mg /kg de ração), com diferença significativa apenas para o grupo deficiente. Segundo estes autores, a concentração eritrocitária de magnésio não é correlacionada com outras reservas teciduais de magnésio, visto que ocorre regulação genética do fluxo de magnésio neste compartimento. Um outro fator que pode ter influenciado o resultado do magnésio eritrocitário

seria o estágio de vida na qual os animais estavam no início do ensaio biológico. Os ratos do presente estudo estavam com 60 dias de idade no início do período de adaptação. Já na maioria dos trabalhos analisados (HSU *et al.*, 1982; BRILLA *et al.*, 1989; YEH & ALOIA, 1991; VERNET *et al.*, 2004; ROCK *et al.*, 1994; ROCK *et al.*, 1995b) os animais ainda estavam em fase de crescimento, fato que exacerbava a depleção de magnésio dos compartimentos corporais.

Os grupos SED e MARG não apresentaram diferenças significativas para o magnésio sérico. Segundo Wälti *et al.* (2006), se a deficiência de magnésio é marginal, os valores de magnésio sérico podem ser normais, apesar da depleção do mineral. Em contrapartida, o grupo EX apresentou concentrações de magnésio sérico maiores que o grupo EXMARG, refletindo melhor a sua redistribuição de magnésio para o tecido muscular, certamente para a produção de energia e o controle de danos oxidativos, aspectos ratificados pela maior atividade de antioxidantes na musculatura esquelética e menor atividade de CK e LDH. O magnésio sérico é considerado um parâmetro relativamente insensível às mudanças na redistribuição do magnésio no organismo após uma sessão de exercício. Todavia, o magnésio sérico apresenta concentrações normais quando a ingestão do mineral estiver adequada, independentemente da atividade física (LUKASKI, 2000). Considerando esta última afirmação, uma redução crônica de magnésio sérico indica que a ingestão do mineral está abaixo das suas necessidades, caracterizando, conseqüentemente, um quadro de deficiência, fato confirmado pela menor concentração do mineral no soro dos animais do grupo EXMARG. Vale ressaltar que o magnésio sérico foi o único parâmetro do presente estudo que apresentou efeito significativo da deficiência de magnésio isoladamente. Este dado é um indicativo da maior necessidade de magnésio para a atividade física, visto que no grupo EXMARG não houve aumento na concentração sérica de magnésio, em contraste com o grupo EX.

Ao se observar o conteúdo de magnésio total nos tecidos estudados, o grupo EX tem maior concentração de magnésio no gastrocnêmio, rins e

cérebro. No gastrocnêmio, o grupo EXMARG não aumentou significativamente o seu conteúdo de magnésio total. Com o indício de lesão muscular refletida pela atividade da CK e LDH sérica, e pela menor atividade de antioxidantes, o grupo EXMARG também encontrou uma saída de magnésio do gastrocnêmio para a circulação. No grupo EX o aumento no conteúdo de magnésio total reflete a preservação da musculatura esquelética no treinamento físico.

Em contraste, o sóleo dos animais do grupo EX mostrou menor concentração de magnésio total. Esta informação não condiz com os resultados encontrados para dano muscular, que foram verificados com atividade aumentada neste grupo. Zimmermann *et al.* (2000) encontraram, em roedores severamente depletados em magnésio por 10 dias, concentração de magnésio muscular 10% maior em comparação ao controle. Tais informações apontam para a existência de um mecanismo regulatório que atue nos tecidos que respondem de forma diferente entre si às variações séricas do mineral. A atividade da SOD, CAT e GPx mostrou maiores valores absolutos no sóleo, demonstrando que mesmo sendo uma musculatura predominantemente oxidativa, estava bem adaptada à ação de ERO. Mesmo com menores concentrações de magnésio e com indício de dano muscular, o sóleo mostrou-se bem protegido de possíveis danos oxidativos.

As concentrações hepáticas de magnésio total não se modificaram entre os grupos. Robeson *et al.* (1980) também não encontraram diferenças entre o teor de magnésio hepático de animais com dieta deficiente em magnésio ou controle. De fato, o fígado não é um compartimento que interfira na manutenção da homeostase do magnésio, fato corroborado pela não ocorrência de peroxidação lipídica distinta entre os grupos analisados. Já nos rins o aumento do seu conteúdo de magnésio no grupo EX pode refletir a maior reabsorção do mineral, que está de acordo com as suas necessidades aumentadas no exercício físico (QUAMME & ROUFFIGNAC, 2000). Em parte, este resultado também justifica a maior quantidade de água

em tecidos deficientes em magnésio, visto que para que este mineral seja reabsorvido, faz-se necessária também a entrada de água.

Finalmente, no tecido cerebral, o grupo EX deve ter sido capaz de manter a integridade do compartimento, visto que o magnésio é indispensável para o metabolismo neuronal (POENARU *et al.*, 1997). Já o grupo EXMARG tem menor concentração de magnésio total por não conseguir atender a demanda exigida na atividade física. A duração e a intensidade do exercício têm papel fundamental na manutenção da homeostase do magnésio cerebral. O magnésio tem importante papel na recuperação dos metabólicos energéticos do cérebro, mantendo constante os níveis de piruvato e de glicose e diminuindo o acúmulo de lactato cerebral (CHENG *et al.*, 2007). Com a deficiência de magnésio, o grupo EXMARG não pôde manter a proteção cerebral em concentrações adequadas, também refletidas pela peroxidação lipídica aumentada. Mais uma vez, houve significância da interação entre a ingestão de magnésio e o exercício físico. O cérebro foi o único tecido que reproduziu tal efeito, tanto na concentração de magnésio total quanto na peroxidação lipídica, exibindo relação inversamente proporcional entre estes parâmetros.

Em suma, a deficiência marginal de magnésio, associada ao treinamento físico regular, permitiu maior ação pró-oxidativa sobre a musculatura esquelética. O nível de ingestão de magnésio não apresentou o efeito significativo esperado para todos os parâmetros analisados. Somente as análises de tecido cerebral relativa à peroxidação lipídica e à concentração de magnésio total exibiram constância na significância na interação da ingestão de magnésio e exercício físico. A atividade das enzimas antioxidantes foi menor nos animais exercitados e com dieta marginalmente deficiente em magnésio. Tanto o gastrocnêmio quanto o sóleo mostraram maior proteção da SOD e GPx, especialmente na fração mitocondrial. Considerando que a atividade física executada era predominantemente aeróbia, estes resultados estão de acordo com os dados da literatura. Nos animais deficientes em magnésio estes resultados não competem, estando suscetíveis a danos oxidativos, bem como mais

propensos a executar o exercício físico proposto com mais dificuldade que os animais saudáveis, levando o seu esforço próximo à anaerobiose. Estes danos não impedem a realização imediata do exercício, todavia remetem à idéia de que uma lesão muscular não tem capacidade regenerativa assegurada nestes animais. Mesmo com indicadores de lesão muscular aumentados e a atividade antioxidante comprometida, os animais exercitados e marginalmente deficientes em magnésio não apresentaram concentrações significativas de TBARS no músculo, tornando plausível a hipótese que a infiltração muscular por macrófagos aumente a ação pró-oxidativa. Somente o cérebro apresentou maior risco para a ação pró-oxidativa na deficiência de magnésio, suplantando o efeito de preservação das funções neurológicas. A concentração sérica de magnésio no exercício é aumentada, a fim de que compartimentos que mais necessitem do mineral sejam plenamente preservados. Na presença da deficiência marginal de magnésio, as concentrações de magnésio sérico não se modificam em relação aos sedentários. O efeito da deficiência dietética de magnésio merece especial atenção em estudos posteriores em relação a mecanismos adaptativos ao exercício físico, como a expressão de proteínas ligadas à síntese de antioxidantes e da troca de magnésio entre os compartimentos.

8. CONCLUSÕES

- Mesmo com indicadores de lesão muscular aumentados os animais do grupo EXMARG não apresentaram concentrações significativas de TBARS no músculo;
- A atividade das enzimas antioxidantes foi menor na fração citossólica da musculatura dos animais do grupo EXMARG, demonstrando suscetibilidade a danos oxidativos e maior propensão à realização da atividade física de forma exaustiva;
- O cérebro foi o único tecido onde houve relação inversamente proporcional da concentração de magnésio e da concentração de TBARS, exibindo significância na interação entre ingestão de magnésio e exercício físico;
- Tecidos muito exigidos na manutenção da homeostase do magnésio, como gastrocnêmio e rins, preservaram o seu conteúdo de magnésio nos animais que consumiram dieta controle, enquanto no soro a concentração de magnésio do grupo EXMARG não se diferencia dos grupos sedentários;
- O nível de ingestão de magnésio aplicado não apresentou o efeito significativo esperado para todos os parâmetros analisados, indicando efeito discreto da deficiência marginal de magnésio sobre o metabolismo oxidativo no exercício físico.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILÓ, A.; TAULER, P.; FUENTESPINA, E.; TUR, J.A.; CÓRDOVA, A.; PONS, A. Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. **Physiology & Behavior**, v. 84, n. 1, p. 1-7, 2005.

AL-SALEH, I.; AL-DOUSH, I. Survey of trace elements in household and bottled drinking water samples collected in Riyadh, Saudi Arabia. **Scientific Total Environment**, v.216, n.3, p.181-192, 1998.

AMES, B.N.; ATAMMA, H.; KILLILEA, D.W. Mineral and vitamin deficiencies can accelerate the mitochondrial decay of aging. **Molecular Aspects of Medicine**, v.26, n. 4-5, p. 363-378, 2005.

AMORIM, A.G. **Magnésio na dieta de praticantes de musculação**. São Paulo, 2002. 93p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.

AMORIM, A.G.; PIRES, I.S.O.; TIRAPEGUI, J. Dano muscular em ratos submetidos a treinamento físico e a deficiência dietética de magnésio. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 20, supl. 5, p. 396, 2006.

AMORIM, A.G.; PIRES, I.S.O.; TIRAPEGUI, J. Indicators of oxidative stress in rats submitted to physical training and to a magnesium-deficient diet. In: 54th Annual Meeting of the American College of Sports Medicine; New Orleans, USA; 2007 June. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v.39, p. S292, 2007.

ANASTASSOPOULOU, J.; THEOPHANIDES, T. Magnesium-DNA interactions and the possible relation of magnesium to carcinogenesis. Irradiation and free radicals. **Critical Reviews in Oncology and Hematology**, v. 42, n. 1, p. 79-91, 2002.

ARAÚJO, J.A.Jr.; FALAVIGNA, G.; ROGERO, M.M.; PIRES, I.S.; PEDROSA, R.G.; CASTRO, I.A.; DONATO, J.Jr.; TIRAPEGUI, J. Effect of chronic supplementation with branched-chain amino acids on the performance and hepatic and muscle glycogen content in trained rats. **Life Sciences**, v. 79, n. 14, p. 1343-1348, 2006.

ASTIER, C.; ROCK, E.; LAB, C.; GUEUX, E.; MAZUR, A.; RAYSSIGUIER, Y. Functional alterations in sarcoplasmic reticulum membranes of magnesium-deficient rat skeletal muscle as consequences of free radical-mediated process. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 20 n. 5 p. 667-674, 1996.

BEUTLER, E. **Red Cell Metabolism: a manual of biochemical methods**. 2nd ed. New York: Grune & Stratton, 1975, p.89-90.

BLOOMER, R.J.; GOLDFARB, A.H. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 29, n. 3, p. 245-263, 2004.

BOHL, C.H.; VOLPE, S.L. Magnesium and exercise. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 6, p. 533-563, 2002.

BRILLA, L.R.; FREDRICKSON, J.H.; LOMBARDI, V.P. Effect of hypomagnesemia and exercise on slowly exchanging pools of magnesium. **Metabolism**, v. 38, n. 8, p. 797-800, 1989.

BRILLA, L.R.; LOMBARDI, V.P. Magnesium in sports physiology and performance. In: WOLINSKI, I; DRISKELL, A.(eds.). **Sports Nutrition: Minerals and Electrolytes**. 1995, CRC Press.

CAHALAN, M.D. Channels as enzymes. **Nature**, v 411, n..6837, p. 542-543, 2001.

CALVIELLO, G.; RICCI, P.; LAURO, L.; PALOZZA, P.; CITTADINI A. magnesium deficiency induces mineral content changes and oxidative stress in rats. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 32, n. 5, p. 903-11, 1994.

CANNON, J.G.; ST PIERRE, B.A. Cytokines in exertion-induced skeletal muscle injury. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.179, n.1, p. 159-167, 1998.

CHANG, C.K.; HUANG, H.Y.; TSENG, H.F.; HSUUW, Y.D.; TSO, T.K. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 18, n. 1, p. 39-45, 2007.

CHENG, S.M.; YANG, D.Y.; LEE, C.P.; PAN, H.C.; CHENG, F.C. Effects of magnesium sulfate on dynamic changes of brain glucose and its metabolites during a short-term forced swimming in gerbils. **European Journal of Applied Physiology**, v.99, n.6, p. 695-699, 2007.

CLANTON, T.L.; ZUO, L.; KLAWITTER, P. Oxidants and skeletal muscle function: physiologic and pathophysiologic implications. **Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine**, v. 222, n. 3, p. 253-62, 1999.

CLARKSON, P.M.; THOMPSON, H.S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, suppl. 1, p. 637S-646S, 2000.

CLOSE, G.L.; KAYANI, A.; VASILAKI, A.; MCARDLE, A. Skeletal muscle damage with exercise and aging. **Sports Medicine**, v. 35, n. 5, p. 413-427, 2005.

COOPER, C.E.; VOLLAARD, N.B.; CHOUETI, T.; WILSON, M.T. Exercise, free radicals and oxidative stress. **Biochemical Society Transitions**, v. 30, n. 2, p. 280-284, 2002.

DAVIES, K.J.; QUINTANILHA, A.T.; BROOKS, G.A. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochemistry and Biophysics Research Community**, v. 107, n. 4, p. 1198-1205, 1982.

DEUSTER, P.A.; Indirect vs. direct measurement of magnesium and zinc in erythrocytes. **Clinical Chemistry**, v. 33, n. 4, p. 529-532, 1987.

DILLARD, C.J.; LITOV, R.E.; SAVIN, W.M. *et al.* Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. **Journal of Applied Physiology**, v. 45, n. 6, p. 927-932, 1978.

DIRKS, A.J.; LEEUWENBURGH, C. The role of apoptosis in age-related skeletal muscle atrophy. **Sports Medicine**, v. 35, n. 6, p. 473-483, 2005.

DREOSTI, I.E. Magnesium status and health. **Nutrition Reviews**, v. 53 n. 9, p. S23-S27, 1995.

DUPOUY, V.M.; FERRE, P.J.; URO-COSTE, E.; LEFEBVRE, H.P. Time course of COX-1 and COX-2 expression during ischemia-reperfusion in rat

skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 100, n. 1, p. 233-239, 2006.

DURLACH, J.; RAYSSIGUIER, Y.; LAGUITTON, A. Le besoin en magnésium et son apport dans la ration. *Méd. Nutr.*, v. 16, n. 1, p. 15-21, 1980. *Apud* LEDERER, J. **Magnésio: mitos e realidade**. Manole, São Paulo, 158 p., 1990.

FABER, M.; BENADÉ, A.J.S.; VAN-ECK, M. Dietary intake, anthropometric measurements, and blood lipid values in weight training athletes (body builders). **International Journal of Sports Medicine**, v.7, n. 6, p. 342 – 346, 1986.

FEILLET-COUDRAY, C.; COUDRAY, C.; TRESSOL, J.C.; PÉPIN, D.; MAZUR, A.; ABRAMS, S.A.; RAYSSIGUIER, Y. Exchangeable magnesium pool masses in healthy women: effects of magnesium supplementation. **American Journal of Clinical Nutrition**, n. 75, v. 1, p.72-78, 2002.

FEILLET-COUDRAY, C.; COUDRAY, C.; GUEUX, E.; DUCROS, V.; MAZUR, A.; RAYSSIGUIER, Y. A new in vitro blood load test using a magnesium isotope for assesement of magnesium status. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1220-1223, 2003.

FEILLET-COUDRAY, C.; TRZECIAKIEWICZ, A.; COUDRAY, C.; RAMBEAU, M.; CHANSON, A.; RAYSSIGUIER, Y.; OPOLSKI, A.; WOLF, F.I.; MAZUR, A. Erythrocyte magnesium fluxes in mice with nutritionally and genetically low magnesium status. **European Journal of Nutrition**, v. 45, n. 1, p. 171-177, 2006.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress. Relationship with exercise and training. **Sports Medicine**, v. 36, n. 4, p. 327-358, 2006.

FINSTAD, E.W.; NEWHOUSE, I.J.; LUKASKI, H.C.; MCAULIFFE, J.E.; STEWART, C.R. The effects of magnesium supplementation on exercise performance. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v. 33, n. 3, p. 493 – 498, 2001.

FOGELHOLM, M.; LAASKO, J.; LEHNO, J.; RUOKONEN, I. Dietary intake and indicators of magnesium and zinc status in male athletes. **Nutrition Research**, v. 11, n. 10, p. 1111-1118, 1991.

FOGELHOLM, M.; REHUNEN, S.; GREF, C.G.; et al. Dietary intake and thiamin, iron and zinc status in elite Nordic skiers during different training periods. **International Journal of Sports Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 351-65, 1992.

FOGELHOLM, M. Indicators of vitamin and mineral status in athletes' blood: a review. **International Journal of Sports Nutrition**, v. 5, n. 2, p. 267-84, 1995.

FORD, E.S.; MOKDAD, A.H. Dietary magnesium intake in a national sample of U.S. adults. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 9, p. 2879-2882, 2003.

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.

FREEDMAN A.M.; CASSIDY, M.M.; WEGLICKI, W.B. Magnesium-deficient myocardium demonstrates an increased susceptibility to an in vivo oxidative stress. **Magnesium Research**, v. 4, n. 3-4, p. 185-189, 1991.

FREEDMAN, A.M.; MAK, I.T.; STAFFORD, R.E.; DICKENS, B.F.; CASSIDY, M.M.; MUESING, R.A.; WEGLICKI, W.B. Erythrocytes from magnesium-deficient hamsters display an enhanced susceptibility to oxidative stress. **American Journal of Physiology**, v. 262, n. 6, p. 1371-1375, 1992.

GANDRA, P.G.; MACEDO, D.V.; ALVES, A.A. Fontes de espécies reativas de oxigênio na musculatura esquelética durante o exercício. **Revista Brasileira de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular**, 02/06: C1-C11, 2006.

GEORGE, G.A.; HEATON, F.W. Changes in cellular composition during magnesium deficiency. **Biochemistry Journal**, v.152, n. 3, p. 609-615, 1975.

GIBSON, R.S. **Principles of nutritional assesement**. Oxford University Press, New York, 691 p., 1990.

GOLDFARB, A.H. Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 24, n. 3, p. 249-266, 1999.

GOMES, M.R.; TIRAPEGUI, J. Relação de alguns suplementos nutricionais e o desempenho físico. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 50, n. 2, p. 317-329, 2000.

GOMEZ-CABRERA, M.C.; BORRÁS, C.; PALLARDÓ, F.V.; SASTRE, J.; JI, L.L.; VINÃ, J. Decreasing xanthine oxidase mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. **Journal of Physiology**, v. 567, n. Pt1, p. 113-120, 2005.

GUEUX, E.; AZAIS-BRAESCO, V.; BUSSIÉRE, L.; GROLIER, P.; MAZUR, A.; RAYSSIGUIER, Y. Effect of magnesium deficiency on triacylglycerol-rich lipoprotein and tissue susceptibility to peroxidation in relation to vitamin E content. **British Journal of Nutrition**, v. 74, n. 6, p. 849-856, 1995.

GÜNDÜZ, F.; ŞENTÜRK, Ü.K.; KURU, O.; AKTEKIN, B.; AKTEKIN, M.R. The effect of one year's swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. **Physiology Research**, v. 53, n. 2, p. 171-176, 2004.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, n. 3, p. 312-322, 2006a.

HALLIWELL, B. Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide? **Trends in Biochemical Sciences**, v. 31, n. 9, p. 509-515, 2006b.

HAMMEREN, J.; POWERS, S.; LAWLER, J.; CRISWELL, D.; MARTIN, D.; LOWENTHAL, D. POLLOCK, M. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle oxidative and antioxidant enzyme activity in senescent rats. **International Journal of Sports Medicine**, v. 13, n. 5, p. 412-416, 1992.

HARTWIG, A. Role of magnesium in genomic stability. **Mutation Research**, v. 475, n. 1-2, p. 113-121, 2001.

HASEBE, N. Magnesium and oxidative stress. **Clinical Calcium**, v. 15, n. 2, p. 194-202, 2002.

HICKSON, J.F.; SCHRADER, J.F.; PIVARNIK, J.M.; STOCKTON, J.E. Nutritional intake from food sources of soccer athletes during two stages of training. **Nutrition Reports International**, v. 34, n. 1, p. 85 - 91, 1986.

HSU, J.M.; RUBENSTEIN, B.; PALEKER, A.G. Role of magnesium in glutathione metabolism of rat erythrocytes. **Journal of Nutrition**, v. 112, n. 3, p. 488-496, 1982.

HUNT, C.D.; JOHNSON, L.K. Magnesium requirements: new estimations for men and women by cross-sectional statistical analyses of metabolic magnesium balance data. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 84, n. 4, p. 843-852, 2006.

INAL, M.; AKYÜZ, F.; TURGUT, A.; GETSFRID, W.M. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v. 33, n. 4, p. 564-567, 2001.

Institute of Medicine. Magnesium. In: **Dietary references intakes of calcium, magnesium, phosphorus, vitamin D, and fluoride**. Washington (D.C.): Food and Nutrition Board, National Academy Press, 1997. Disponível em: <http://www.nap.edu/openbook/0309063507/html/R1.html>. Acesso em 25 Fev 2000.

Institute of Medicine (IOM). **Dietary reference intakes: applications in dietary assesement**. Food and Nutrition Board, National Academy Press; 2000. p.29 – 288. Washington, D.C. Disponível em: <<http://www.nap.edu/openbook/0309071836/html/R1.html>>. Acesso em: 13 Jan 2001.

JACKSON, M.J. Free radicals in skin and muscle: damaging agents or signals for adaptation? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, n. 3, p. 673-676, 1999.

JENSEN, C. D.; ZALTAS, E. S.; WHITTAM, J.H. Dietary intakes of male endurance cyclists during training and racing. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 92, n. 8, p. 986 – 988, 1992.

JIMÉMEZ, A.; PLANELLS, E.; ARANDA, P.; SANCHEZ-VINÑAS, M.; LLOPIS, J. Changes in bioavailability and tissue distribution of selenium caused by magnesium deficiency in rats. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 175-180, 1997.

JO, S.H.; SON, M.K.; KOH, H.J.; LEE, S.M.; SONG, I.H.; KIM, Y.O.; LEE, Y.S.; JEONG, K.S.; KIM, W.B.; PARK, J.W.; SONG, B.J.; HUHE, T.L. Control of mitochondrial redox balance and cellular defense against oxidative damage by mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 19, p. 16168-16176, 2001.

JOHNSON, S. The multifaceted and widespread pathology of magnesium deficiency. **Medical Hypothesis**, v. 58, n. 2, p. 163-170, 2001.

KHASSAF, M.; CHILD, M.; MCARDLE, A.; BRODIE, D.A.; ESANU, C.; JACKSON, M.J. Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 90, n. 3, p. 1031-1035, 2001.

KLEINER, S.M.; BAZARRE, T.L.; LITCHFORD, M.D. Metabolis profiles, diet, and health practices of championship male and female bodybuilders. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 90, n. 7, p. 962 – 967, 1990.

LAIRES MJ, MADEIRA F, SERGIO J, COLACO C, VAZ C, FELISBERTO GM, NETO I, BREITENFELD L, BICHO M, MANSO C. Preliminary study of the relationship between plasma and erythrocyte magnesium variations and some circulating pro-oxidant and antioxidant indices in a standardized physical effort. **Magnesium Research**, v. 6, n. 3, p. 233-8, 1993.

LAKSHMANAN, F.L.; RAO, R.B.; KIM, W.W.; KELSAY, J.L. Magnesium intakes, balances, and blood levels of adults consuming self-selected diets. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 40, n. 6 suppl, p. 1380-1389, 1984.

LEAL, L.; GÓMEZ-TRULLEN, E.; GÁLVEZ, M.; LÓPEZ-COLÓN, J.L.; MILLÁN, S.; GARCÍA, J.; ESCANERO, J.F. Magnesium supplementation in soccer players: effects on metal related to antioxidant defence. **Magnesium Research**, v. 17, n. 3, p. 230, 2004.

LEE, J.; CLARKSON, P.M. Plasma creatine kinase activity and glutathione after eccentric exercise. **Medicine Science in Sports Exercise**, v. 35, n. 6, p. 930-936, 2003.

LEEUWENBURGH, C.; HOLLANDER, C.; LEICHTWEIS, S.; GRIFFITHS, M.; GORE, M.; JI, L.L. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. **American Journal of Physiology**, v. 272, n. 1 pt 2, p. R363-R369, 1997.

LERMA, A.; PLANELLS, E.; ARANDA, P.; LLOPIS, J. Effect of magnesium deficiency on fatty acid composition of the erythrocyte membrane and plasma lipid concentration in rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 6, n. 11, p. 577-581, 1995.

LIU, L. Hypomagnesemia in a tennis player. **Physician Sportsmed**, v. 11, n. 1, p. 79-80, 1983.

LIU, Y.X.; GUO, Y.M.; WANG, Z. Effect of magnesium on reactive oxygen species production in the thigh muscles of broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 48, n. 1, p. 84-89, 2007.

LOVERDE, A.W.; LEHRER, G.M. Subcellular distribution of isocitrate dehydrogenases in neonatal and adult mouse brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 20, n. 2, p. 441-448, 1973.

LOWRY, D.H.; ROSEBROUGH, J.N.; FARR, A.L.; RANDAL, R.J. Determination of protein with the Follin Phenol Reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 2, p. 266-275, 1951.

LUKASKI, H.C. Micronutrients (magnesium, zinc and cooper): are mineral supplements needed for athletes? **International Journal of Sports Nutrition**, v. 5, suppl. 1, p. S74-S83, 1995.

LUKASKI, H.C.; SIDRES, W.A.; HOVERSON, B.S.; GALLAGHER, S.K. Iron, copper, magnesium and zinc status as predictors of swimming performance. **International Journal of Sports Medicine**, v. 17, n. 5, p. 535-540, 1996.

LUKASKI, H.K. Vitamin and mineral metabolism and exercise performance. In: LAMB, D.R.; MURRAY, R. (eds.). **Perspectives in exercise science and sports medicine. Volume 12: The metabolic basis of performance in exercise and sport**. Cooper Publishing Group, 1999, p. 261-314.

LUKASKI, H.C. Magnesium, zinc, and chromium nutriture and physical activity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, suppl. 1, p. 585S-593S, 2000.

LUKASKI, H.C. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. **Nutrition**, v. 20, n. 7-8, p. 632-644, 2004.

MAIER, J.A .M.; MALPUECH-BRUGÈRE, C.; ROCK, E.; RAYSSIGUIER, Y.; MAZUR, A. Serum from magnesium-deficient rats affects vascular endothelial cells in culture: role of hyperlipemia and inflammation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 9, n. 1, p. 17-22, 1998.

MAK, I.T.; KOMAROV, A.M.; WAGNER, T.L.; STAFFORD, R.E.; DICKENS, B.F.; WEGLICKI, W.B. Enhanced NO production during magnesium deficiency and its role in mediating red blood cell glutathione loss. **American Journal of Physiology**, v. 271, n. 1 pt 1, p. 85-90, 1996.

MAK, I.T.; DICKENS, B.F.; KOMAROV, A.M.; WAGNER, T.L.; PHILLIPS, T.M.; WEGLICKI, W.B. Activation of the neutrophil and loss of plasma glutathione during magnesium deficiency – modulation by nitric oxide synthase inhibition. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 176, n. 1-2, p. 35-39, 1997.

MALUCELLI, E.; LODI, R.; MARTINUZZI, A.; TONON, C.; BARBIROLI, B.; IOTTI, S. Free Mg^{2+} concentration in the calf muscle of glycogen phosphorylase and phosphofructokinase deficiency patients assessed in different metabolic conditions by ^{31}P MRS. **Dynamic Medicine**, v. 4, n. 7, p. 1-6, 2005.

MANJU, L.; NAIR, R.R. Magnesium deficiency augments myocardial response to reactive oxygen species. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 84, n. 6, p. 617-624, 2006.

MARTIN, H.; RICHERT, L.; BERTHELOT, A. Magnesium deficiency induces apoptosis in primary cultures of rat hepatocytes. **Journal of Nutrition**, v. 133, n. 8, p. 2505-2511, 2003.

MARTINI, L.A.; WOOD, R.J. Assessing magnesium status: a persisting problem. **Nutritional and Clinical Care**, v. 4, n.6, p. 332-337, 2001.

MAYHEW, D.L.; THYFAULT, J.P.; KOCH, A.J. Rest-interval length affects leukocyte levels during heavy resistance exercise. **Journal of Strength and Conditional Research**, v. 19, n. 1, p. 16-22, 2005.

MAZUR, A.; MAIER, J.A .M.; ROCK, E.; GUEUX, E.; NOWACKI, W.; RAYSSIGUIER, Y. Magnesium and the inflammatory response: potencial physiopathological implications. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 458, n.1, p. 48-56, 2007.

MCARDLE, A.; PATTWELL, D.; VASILAKI, A.; GRIFFITHS, R.D.; JACKSON, M.J. Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. **American Journal of Physiology and Cell Physiology**, v. 280, n. 3, p. C621-C627, 2001.

MCARDLE, A.; VASILAKI, A.; JACKSON, M. Exercise and skeletal muscle ageing: cellular and molecular mechanisms. **Ageing Research Reviews**, v. 1, n. 1, p. 79-93, 2002.

MCCORD, J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **Journal of Biological Chemistry**, v.244, n. 22, p. 6049-6055, 1969.

MCCULLY, K.K.; MALUCELLI, E.; IOTTI, S. Increase of free Mg^{2+} in the skeletal muscle of chronic fatigue syndrome patients. **Dynamic Medicine**, v. 5, n.1, 3 pág., 2006.

MONTEIRO, C.P.; VARELA, A.; PINTO, M.; NEVES, J.; FELISBERTO, G.M.; VAZ, C.; BICHO, M.P.; LAIRES; M.J. Effect of an aerobic training on magnesium, trace elements and antioxidant systems in a Down syndrome population. **Magnesium Research**, v. 10, n. 1, p. 65-71, 1997.

MOOREN, F.C.; GOLF, S.W.; LECHTERMANN, A.; VÖLKER, K. Alterations of ionized Mg^{2+} in human blood after exercise. **Life Sciences**, v. 77, n. 11, p. 1211-1225, 2005.

MOSHFEHGH, A.; GOLDMAN, J.; CLEVELAND, L. What we eat in America, NHANES 2001-2002: usual nutrient intakes from food compared to dietary reference intakes. Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/SPUserFiles/Place/12355000/pdf/usualintaketables2001-02.pdf>. Acesso em 05 fev 2007.

NAKATANI, K.; KOMATSU, M.; KATO, T.; YAMANAKA, T.; TAKEKURA, H.; WAGATSUMA, K.; AOYAMA, K.; XU, B.; HIRANO, T.; KASAI, H.; ANDO, S.; TAKEUCHI, T. Habitual exercise induced resistance to oxidative stress. **Free Radical Research**, v. 39, n. 9, p. 905-911, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Recommended Dietary Allowances**, Washington, D.C. National Academy Press, 10th ed., 1989.

NAVAS, F.J.; MARTIN, J.F.; CORDOVA, A. Compartmental shifts of calcium and magnesium as a result of swimming and swimming training in rats. **Medicine Science in Sports Exercise**, v. 29, n. 7, p. 882-891, 1997.

NIELSEN, F.H.; LUKASKI, H.C. Update on the relationship between magnesium and exercise. **Magnesium Research**, v. 19, n. 3, p. 180-189, 2006.

OGONOVSKY, H.; SASVÁRI, M.; DOSEK, A.; ISTVÁN, B.; KANEKO, T.; TAHARA, S.; NAKAMOTO, H.; GOTO, S.; RADÁK, Z. The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 30, n. 2, p. 186-195, 2005.

PEAKE, J.M.; SUZUKI, K.; COOMBES, J.S. The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. *J Nutr Biochem* [periódico eletrônico], 11 pág., 2006,

Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/09552863> .
Acesso em 12 Fev 2007.

PEDROSA, R.G.; TIRAPEGUI, J.; ROGERO, M.M.; CASTRO, I.A.; PIRES, I.S.O.; OLIVEIRA, A.A.M. Influência do exercício físico na composição química da massa corporal magra de ratos submetidos à restrição alimentar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 1, p. 27-34, 2004.

PEREIRA, I.R.O.; ABDALLA, D.S.P. Estresse oxidativo na atividade física. In: TIRAPEGUI, J. (editor). **Nutrição, Metabolismo e Suplementação na Atividade Física**. 1ª edição. São Paulo: Atheneu, 2005. Capítulo 22, páginas 243-252.

PINHO, R.A .; ANDRADES, M.E.; OLIVEIRA, M.R.; PIROLA, A .C.; ZAGO, M.S.; SILVEIRA, P.C.L.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J.C.F. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. **Cellular Biology International**, v. 30, n. 10, p. 848-853, 2006.

PITTALUGA, M.; PARISI, P.; SABATINI, S.; CECI, R.; CAPOROSSO, D.; CATANI, M.V.; SAVINI, I.; AVIGLIANO, L. Cellular and biochemical parameters of exercise –induced oxidative stress: relationship with training levels. **Free Radical Research**, v. 40, n. 6, p. 607-614, 2006.

POENARU, S.; MANICOM, R.; ROUHANI, S.; AYRNARD, P.; BAJENARU, O.; RAYSSIGUIER, Y.; EMMANOULLIDIS, E.; GUEUX, E.; NKANGA, N.; DURLACH, J.; DALL'AVA, J. Stability of brain content of magnesium in experimental hypomagnesemia. **Brain Research**, v. 769, n. 2, p. 329-332, 1997.

POWERS, S.K.; LENNON, S. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, n. 4, p. 1025-1034, 1999.

POWERS, S.K.; DERUISSEAU, K.C.; QUINDRY, J.; HAMILTON, K.L. Dietary antioxidants and exercise. **Journal of Sports Sciences**, v. 22, n. 1, p. 81-94, 2004.

QUAMME, G.A.; ROUFFIGNAC, C. Epithelial magnesium transport and regulation by the kidney. **Frontiers in Bioscience**, v. 5, p. D694-711, 2000.

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

RAYSSIGUIER Y, GUEZENNEC CY, DURLACH J. New experimental and clinical data on the relationship between magnesium and sport. **Magnesium Research**, v. 3, n. 2, p. 93-102, 1990.

RAYSSIGUIER Y, DURLACH J, GUEUX E, ROCK E, MAZUR A. Magnesium and ageing. I. Experimental data: importance of oxidative damage. **Magnesium Research**, v. 6, n. 4, p. 369-78, 1993a.

RAYSSIGUIER, Y.; GUEUX, E.; BUSSIÈRE, L.; DURLACH, J.; MAZUR, A. Dietary magnesium affects susceptibility of lipoproteins and tissues to peroxidation in rats. **Journal of the American College of Nutrition**, v.12, n. 2, p. 133-137, 1993b.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY Jr, G.C.; AIN-93G purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

REGAN, R.F.; GUO, Y. Magnesium deprivation decreases cellular reduced glutathione and causes oxidative neuronal death in murine cortical cultures. **Brain Research**, v. 890, n. 1, p. 177-183, 2001.

REID, M.B.; HAACK, K.E.; FRANCHEK, K.M.; VALBERG, P.A. ; KOBZIK, L.; WEST, M.S. Reactive oxygen in skeletal muscle. I. Intracellular oxidant kinetics and fatigue *in vitro*. **Journal of Applied Physiology**, v. 73, n. 5, p. 1797-1804, 1992.

REID, M.B. Plasticity in skeletal muscle, 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, n. 2, p. 724-731, 2001.

RICO-SANZ, J.; FRONTERA, W.R.; MOLÉ, P.A.; RIVERA, M.A.; RIVERA-BROWN, A.; MEREDITH, C.N. Dietary performance assesement of elite soccer players during a period of intense training. **International Journal of Sports Nutrition**, v. 8, n. 3, p. 230- 240, 1998.

ROBESON, B.L.; MARTIN, W.G.; FRIEDMAN, M.H. A biochemical and ultrastructural study of skeletal muscle from rats fed a magnesium-deficient diet. **Journal of Nutrition**, v. 110, n. 10, p. 2078-2084, 1980.

ROCK, E.; GUEUX, E.; CUBIZZOLLES, C.; RAYSSIGUIER, Y. Calcium permeability and ATPase activities of red blood cells of magnesium deficient rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 5, n. 7, p. 351-355, 1994.

ROCK, E.; ASTIER, C.; LAB, C.; VIGNON, X.; GUEUX, E.; MOTTA, C.; RAYSSIGUIER, Y. Dietary magnesium deficiency in rats enhances free radical production in skeletal muscle. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1205-1210, 1995a.

ROCK, E.; ASTIER, C.; LAB, C.; MALPUECH, C.; NOWACKI, W.; GUEUX, E.; MAZUR, A.; RAYSSIGUIER, Y. Magnesium deficiency in rats induces a rise in plasma nitric oxide. **Magnesium Research**, v. 8, n. 3, p. 237-242, 1995b.

ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J.; PEDROSA, R.G.; CASTRO, I.A.; PIRES, I.S.O.; OLIVEIRA, A.A.M.; SALGADO, M.M.; PINTO, A. R.; UEDA, M. Efeito da suplementação com L-alanil-L-glutamina sobre a resposta de hipersensibilidade do tipo tardio em ratos submetidos ao treinamento intenso. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 10, p. 487-497, 2002.

ROSSI, L. **Efeitos da suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada e sua relação com a fadiga periférica e central**. São Paulo, 2001, 95p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.

RUDE, R.K. Magnesium deficiency: a cause of heterogenous disease in humans. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 13, n. 4, p. 749-756, 1998.

RUDE, R.K.; GRUBER, H.E.; NORTON, H.J.; WEI, L.Y.; FRAUSTO, A.; KILBURN, J. Dietary magnesium reduction to 25% of nutrient requirement disrupts bone and mineral metabolism in the rat. **Bone**, v. 37, n. 2, p. 211-219, 2005.

SABATIER, M.; ARNAUD, M.J.; KASTENMAYER, P.; RYTZ, A.; BARCLAY, D.V. Meal effect on magnesium bioavailability from mineral water in healthy women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, n. 1, p. 65-71, 2002.

SARIS, N.L.; MERVAALA, E.; KARPPANEN, H.; KHAWAJA, J.A.; LEWENSTAM, A. Magnesium: an update on physiological, clinical, and analytical aspects. **Clinical Chemical Acta**, v. 294, n. 1-2, p. 1-26, 2000.

SCANLAN, B.J.; TUFT, B.; ELFREY, J.E.; SMITH, A.; ZHAO, A.; MORIMOTO, M.; CHMIELINSKA, J.J.; TEJERO-TALDO, M.I.; MAK, I.U.; WEGLIICKI, W.B.; SHEA-DONOHUE, T. Intestinal inflammation caused by magnesium deficiency alters basal and oxidative stress-induced intestinal function. **Molecular and Cellular Biochemistry** [periódico eletrônico]. Disponível em: <http://www.springerlink.com>. Acesso em 11 Agosto 2007.

SCHIFFRIN, E.L.; TOUYZ, R.M. Calcium, magnesium, and oxidative stress in hyperaldosteronism. **Circulation**, v. 111, n. 7, p. 830-831, 2005.

SCHNEIDER, C.D. & OLIVEIRA, A.R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina Esportiva**, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SCHUETTE, S.; HONG, J.; VERAULT, D.; TING, B.; JANGHORBANI, M. Effect of magnesium nutriture on the dynamics of administered ^{25}Mg exchange *in vivo* in the rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 1, n. 7, p. 355-361, 1990.

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

SHIVAKUMAR, K.; KUMAR, B.P. Magnesium deficiency enhances oxidative stress and collagen synthesis *in vivo* in the aorta of rats. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 29, n. 11, p. 1273-1278, 1997.

SIES, H.; KOCH, O.R.; MARTINO, E.; BOVERIS, A. Increased biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol treated rats. **FEBS Letters**, v. 103, n. 2, p. 287-290, 1979.

SIMPSON, R.J.; WILSON, M.R.; BLACK, J.R.; ROSS, J.A.; WHYTE, G.P.; GUY, K.; FLORIDA-JAMES, G.D. Immune alterations, lipid peroxidation, and muscle damage following a hill race. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 30, n. 2, p. 196-211, 2005.

SIU, P.M.; BRYNER, R.W.; MARTYN, J.K.; ALWAY, S.E. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. **FASEB Journal**, v. 18, n. 6, p. 1150-1152, 2004.

SMITH, M.A.; REID, M.B. Redox modulation of contractile function in respiratory and limb skeletal muscle. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v. 151, n. 2-3, p. 229-241, 2006.

SPEICH, M.; PINEAU, A.; BALLERREAU, F. Minerals, trace elements and related biological variables in athletes and during physical activity. **Clinical Chemical Acta**, v. 312, n. 1, p. 1-11, 2001.

SUREDA, A.; TAULER, P.; AGUILO, A.; CASES, N.; FUENTESPINA, E.; CÓRDOVA, A.; TUR, J.A.; PONS, A. Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defences during exhaustive exercise. **Free Radical Research**, v. 39, n. 12, p. 1317-1324, 2005.

TOUYZ, R.M.; SCHIFFRIN, E.L. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. **Histochemistry and Cellular Biology**, v. 122, n. 4, p. 339-352, 2004.

UCHIYAMA, S.; TSUKAMOTO, H.; YOSHIMURA, S.; TAMAKI, T. Relationship between oxidative stress in muscle-tissue and weight-lifting-induced muscle damage. **European Journal of Physiology**, v. 452, n. 1, p. 109-116, 2006.

URSO, M.L.; CLARKSON, P.M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v. 189, n. 1-2, p. 41-54, 2003.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, N.T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry and Cellular Biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VÁSQUEZ, J.W.P. **Avaliação do estado nutricional de atletas maratonistas em fase pré-competitiva. Uma abordagem referente ao ferro.** São Paulo, 1998. 96p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.

VENDITTI, P.; DIMEO, S. Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. **International Journal of Sports Medicine**, v. 18, n. 7, p. 497-502, 1997.

VERNET, P.; BRITAN, A.; GUEUX, E.; MAZUR, A.; DREVET, J.R. Dietary magnesium depletion does not promote oxidative stress but targets apical cells within the mouse caput epididymidis. **Biochemistry and Biophysics Acta**, v. 1675, n. 1-2, p. 32-45, 2004.

VIEIRA, R.; HAEBISCH, H.; KOKUBUN, E.; HELL, N.S.; CURI, R. Swimming system for physical exercise in rats. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 31, n. 3, p. 387-394, 1988.

VOLLARD, N.B.J.; SHEARMAN, J.P.; COOPER, C.E. Exercise-induced oxidative stress. Myths, realities and physiological relevance. **Sports Medicine**, v. 35, n. 12, p. 1045-1062, 2005.

VORMANN, J. Magnesium: nutrition and metabolism. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, n. 1-3, p. 27-37, 2003.

WÄLTI, M.K.; WALCZYK, T.; ZIMMERMANN, M.B.; FORTUNATO, G.; WEBER, M.; SPINAS, G.A.; HURRELL, R.F. Urinary excretion of an intravenous ^{26}Mg dose as an indicator of marginal deficiency in adults. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, n. 2, p. 147-154, 2006.

WARNIP, R.A. Effect of food sources and processing on protein and mineral absorption. In: _____. **Protein nutrition and mineral absorption**. CRC Press, Boca Raton, 1990. 61-76.

WEGLICKI, W.B.; PHILLIPS, T.M.; FREEDMAN, A.M.; CASSIDY, M.M.; DICKENS, B.F. Magnesium deficiency elevates circulating levels of inflammatory cytokines and endothelin. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 110, n. 2, p. 169-173, 1992.

WHITEHOUSE, R.C.; PRASAD, A.S.; RABANNI, P.I.; COSSACK, Z.T. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clinical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 475-80, 1982.

WINDHAUSER, M.M.; KAPPEL, L.C.; HEGSTED, M. The humoral immune response in marginally and severely magnesium deficient rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 2, n. 10, p. 541-546, 1991.

WINTERBOURN, C.C.; GUTTERIDGE, J.M.; HALLIWELL, B. Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O₂. **Journal of Free Radical Biology and Medicine**, v. 1, n. 1, p. 43-49, 1985.

WOLF, F.I.; CITTADINI, A. Chemistry and biochemistry of magnesium. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, n. 1-3, p. 3-9, 2003.

WOLF, F.I.; TORSELLO, A.; FASANELLA, S.; CITTADINI, A. Cell physiology of magnesium. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, n. 1-3, p. 11-26, 2003.

WORME, J.D.; DOUBT, T.J.; SINGH, A.; RYAN, C.J.; MOSES, F.M.; DEUSTER, P.A. Dietary patterns, gastrointestinal complaints, and nutrition knowledge of recreational triathletes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, n. 4, p. 690-697, 1990.

YEH, J.K. & ALOIA, J.F. Effect of physical activity on the metabolism of magnesium in the rat. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 10, n. 5, p. 487-493, 1991.

YUYAMA, L.K. O.; ROCHA, Y.R.; COZZOLINO, S.M.F. Composição química e percentual de adequação da dieta regional de Manaus – AM. **Acta Amazonica**, v. 22, n. 4, p. 587-593, 1992.

ZIMMERMANN, P.; WEISS, U.; CLASSEN, H.G.; WENDT, B.; EPPLE, A.; ZOLLNER, H.; TEMMEL, W.; WEGER, M.; PORTA, S. The impact of diets with different magnesium contents on magnesium and calcium in serum and tissues of the rat. **Life Sciences**, v. 67, n. 8, p. 949-958, 2000.

10. ANEXOS

ANEXO 1

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Comissão de Ética em Experimentação Animal

Ofício CEEA nº 38/2005

São Paulo, 01 de agosto de 2005.

Ilmo(a) Sr(a).

Aline Guimarães Amorim

Orientador: Prof. Júlio Orlando Tirapegui Toledo

FBA

Prezado(a) Senhor(a),

A Comissão de Ética em Experimentação Animal da FCF/USP, em reunião realizada em 1º de agosto, **aprovou** o projeto “Dano oxidativo em tecidos de ratos submetidos a protocolo de treinamento periodizado: efeito da deficiência dietética de magnésio” (Protocolo CEEA nº 83), apresentado por Vossa Senhoria.

Lembrando que os procedimentos a serem utilizados no estudo causarão estresse no animal, portanto, deverá ser informado no formulário de descrição da pesquisa, item 7 a.

Sendo o que nos cumpre, reiteramos protestos de estima e consideração.

Atenciosamente,

Prof. Assoc. Elfriede Marianne Bacchi
Coordenadora da CEEA/FCF/USP

ANEXO 2

TABELA 11. Composição das rações do experimento (AIN-93M) (REEVES *et al.*, 1993).

Ingredientes	g/ Kg ração
Amido	620,692
Sacarose	100
Caseína ($\geq 85\%$ de proteína)	140
Óleo de soja	40
Celulose	50
Mistura salina	35
Mistura vitamínica	10
L-cistina	1,8
Bitartarato de colina	2,5
Tetrabutylhidroquinona	0,008

ANEXO 3

TABELA 12. Composição das misturas salinas (g/Kg mistura) para as dietas experimentais (AIN93M).

INGREDIENTES	CONTROLE	MARGINALMENTE DEFICIENTE
Carbonato de cálcio	357,0	357,0
Fosfato de potássio	250,0	250,0
Cloreto de sódio	74,0	74,0
Sulfato de potássio	46,6	46,6
Citrato de potássio	28,0	28,0
Óxido de magnésio	24,0	9,6
Citrato férrico	6,06	6,06
Carbonato de zinco	1,65	1,65
Carbonato de manganês	0,63	0,63
Carbonato cúprico	0,30	0,30
Iodato de potássio	0,01	0,01
Selenato de sódio	0,01025	0,01025
Paramolibdato de amônia	0,00795	0,00795
Metasilicato de sódio	1,45	1,45
Cromo sulfato de potássio	0,275	0,275
Ácido bórico	0,0815	0,0815
Fluoreto de sódio	0,0635	0,0635
Carbonato de níquel	0,0318	0,0318
Cloreto de lítio	0,0174	0,0174
Vanadato de amônia	0,0066	0,0066
Sacarose	209,806	224,206

Fênix - Sistema de Pós Graduação		Aluno 9132/3254020-2 Página 1/2
<p align="center">UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Faculdade de Ciências Farmacêuticas</p>	
FICHA DO ALUNO			
<p>Nome: Aline Guimarães Amorim</p> <p>E.Mail: amorimag@usp.br</p> <p>Data de Nascimento: 09/04/1977 Cédula de Identidade: RG: 94002048157 - CE</p> <p>Local de Nascimento: Estado do Ceará Nacionalidade: Brasileira</p> <p>Graduação: Nutricionista - Centro de Ciências da Saúde - Universidade Estadual do Ceará - Ceará - Brasil - 1999</p> <p>Mestrado: Mestre em Ciência dos Alimentos - Área: Nutrição Experimental - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2002</p>			
<p>Curso: Doutorado em Ciência dos Alimentos</p> <p>Área de Concentração: Nutrição Experimental</p> <p>Data da Matrícula: 27/01/2003 Início Contagem de Prazo: 27/01/2003 Data Limite: 27/05/2007</p> <p>Prorrogação: 120 dias Período de: 27/01/2007 a 27/05/2007</p> <p>Orientador: Prof(a). Dr(a). Celia Colli - 27/01/2003 a 12/07/2005 E.Mail: cecolli@usp.br</p> <p>Orientador: Prof(a). Dr(a). Julio Orlando Tirapegui Toledo - 13/07/2005 a -- E.Mail: tirapegu@usp.br</p> <p>Proficiência em Língua(s):</p> <p>Exame de Qualificação: Aprovado em 28/06/2006</p> <p>Data do Depósito do Trabalho: Data máxima para aprovação da Banca:</p> <p>Título do Trabalho:</p> <p>Data de Aprovação da Banca: Data máxima para a defesa:</p> <p>Data da Defesa:</p> <p>Notas da Defesa:</p> <p>Ocorrência: Última matrícula em 20/02/2007</p>

		23/5/2007 15:50	

Efeito da deficiência dietética de magnésio no metabolismo oxidativo de tecidos de ratos submetidos a protocolo de treinamento periodizado

Fênix - Sistema de Pós Graduação		Aluno 9132/3254020-2 Página 2/2
<p align="center">UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Faculdade de Ciências Farmacêuticas</p>							
		<p align="center">FICHA DO ALUNO</p>							
Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Créd.	Freq.	Conc.	Exc.	Sit. Matric.	
FBA5735-1/1	Carboidratos complexos em alimentos: fibra alimentar	07/03/2003	08/05/2003	---	0,00	-	N	Turma cancelada	
FBA5704-3/1	Parâmetros Bioquímicos Indicativos do Estado Nutricional	28/05/2003	01/07/2003	3	90,00	A	N	Concluída	
AGG5900-4/2	Preparação Pedagógica (Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas - Universidade de São Paulo)	28/08/2003	10/12/2003	---	0,00	-	N	Pré-matricula indeferida	
FBA5735-1/2	Carboidratos complexos em alimentos: fibra alimentar	07/10/2003	08/12/2003	6	75,00	B	N	Concluída	
QFL5709-2/2	Amostragem e Preparação de Amostra (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	07/10/2003	25/11/2003	4	100,00	C	N	Concluída	
FBA5724-3/1	Nutrição Experimental II	01/03/2004	11/04/2004	6	100,00	A	N	Concluída	
AGG5900-5/1	Preparação Pedagógica (Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas - Universidade de São Paulo)	11/03/2004	23/06/2004	1	100,00	A	N	Concluída	
Créditos mínimos exigidos:		Para Exame de Qualificação		Para Depósito de Dissertação/Tese		Créditos obtidos:			
Disciplinas:		20		20		Disciplinas: 20			
Total:		20		20		Total: 20			
Créditos atribuídos à Tese: 167

ELAINE MIDORI YCHICO
 Técnico Acadêmico
 CAd. USP 2115401

Conceito até 31/12/1996: A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; D - Insuficiente, sem direito a crédito;
 E - Reprovado, sem direito a crédito; I - Incompleto; J - Abandono Justificado; T - Transferência.
 Conceito a partir de 02/1/1997: A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
 Um (1) crédito equivale a quinze (15) horas de atividade programada.

Aline Guimaraes Amorim

Curriculum Vitae

Dados Pessoais

Nome Aline Guimaraes Amorim
Filiação Gabriel Azevedo Amorim e Maria do Perpétuo Socorro Guimaraes
Nascimento 09/04/1977 - Fortaleza/CE - Brasil
Carteira de Identidade 94002048157 SSP - CE - 07/01/2003
CPF 25946234315

Formação Acadêmica/Titulação

2003 - 2007 Doutorado em Ciência dos Alimentos.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, FCF, Sao Paulo, Brasil
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2000 - 2002 Mestrado em Ciências dos Alimentos.
Universidade de São Paulo, USP, Sao Paulo, Brasil, Ano de obtenção: 2002
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

1995 - 1998 Graduação em Nutricao / Bacharelado.
Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Formação complementar

1990 - 1993 The Regular English Course.
Instituto Brasil Estados Unidos no Ceará, IBEU, Brasil

1997 - 1997 Curso de curta duração em Nutrição e Atividade Física Abordagem Ortomolecular.
Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil

1998 - 1998 Curso de Nutrição Esportiva.
VI Congresso Brasileiro de Sport Fitness, VI CBSF, Brasil

1998 - 1998 Extensão universitária em Nutrição Esportiva.
Universidade de Fortaleza, UNIFOR, Fortaleza, Brasil

1999 - 1999 Curso de Distúrbios Alimentares.
Universidade Estadual do Ceará, UECE, Fortaleza, Brasil

1999 - 1999 Nutrição Esportiva.
VIII Congresso Brasileiro de Sport Fitness, VIII CBSF, Brasil

1999 - 1999 Nutrição e Rendimento Esportivo: Bases Metabólicas.
Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo,

	EEFE/USP, Brasil
2000 - 2000	Fisiologia do exercício. Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, EEFE/USP, Brasil
2001 - 2001	Curso de curta duração em Curso de Validação de metodologia analítica: aplic. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, SBAN, São Paulo, Brasil
2002 - 2004	Advanced. English on Campus, EOC/USP, Brasil
2005 - 2005	Delineamento experimental com animais. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, FCF/USP, Brasil

Projetos

2003 - 2007	Efeito da deficiência dietética de magnésio sobre o metabolismo oxidativo de tecidos de ratos submetidos a protocolo de exercício periodizado Descrição: Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos Situação: Em Andamento Natureza: Pesquisa Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1); Integrantes: Aline Guimaraes AmorimJulio Orlando Tirapegui Toledo (Responsável) Financiador(es): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES
2000 - 2002	Magnésio na dieta de praticantes de musculação Descrição: Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos Situação: Concluído Natureza: Pesquisa Integrantes: Aline Guimaraes AmorimCélia Colli (Responsável) Financiador(es): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP
1997 - 1999	Nutrição da gestante adolescente – conhecimentos, atitudes e práticas alimentares Descrição: Projeto de Iniciação Científica Situação: Concluído Natureza: Pesquisa Alunos envolvidos: Graduação (1); Integrantes: Aline Guimaraes AmorimDaniela Vasconcelos de Azevedo; Helena Alves de Carvalho Sampaio (Responsável) Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

Áreas de atuação

1. Nutrição
2. Educação Física
3. Bioquímica da Nutrição
4. Bioquímica
5. Fisiologia
6. Dietética
- 7.

Idiomas

Inglês	Compreende Bem , Fala Bem, Escreve Bem, Lê Bem
Espanhol	Compreende Pouco , Fala Pouco, Escreve Pouco, Lê Razoavelmente
Português	Compreende Bem , Fala Bem, Escreve Bem, Lê Bem

Produção em C, T & A

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. AMORIM, A. G., TIRAPEGUI, J.
Aspectos Atuais da Relação Entre Exercício Físico, Estresse Oxidativo e Magnésio (enviado para publicação). Revista de Nutrição. , v.21, p.?? - , 2007.

Comunicações e Resumos Publicados em Anais de Congressos ou Periódicos (resumo)

1. AMORIM, A. G., PIRES, I. S. O., TIRAPEGUI, J.
Indicators of oxidative stress in rats submitted to physical training and to a magnesium-deficient diet In: 54th Annual Meeting of the American College of Sports Medicine, 2007, New Orleans.

Medicine & Science in Sports & Exercise. Indianapolis: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. v.39. p.S292 - S292

Referências adicionais : Estados Unidos/Inglês. Meio de divulgação: Vários, Home page: [http://www.acsm-msse.org]

2. AMORIM, A. G., PIRES, I. S. O., TIRAPEGUI, J.
Dano muscular em ratos submetidos a treinamento físico e a deficiência dietética de magnésio In: XI Congresso de Ciências do Desporto e Educação Física dos Países de Língua Portuguesa, 2006, São Paulo.

Revista Brasileira de Educação Física e Esporte. São Paulo: , 2006. v.20. p.396 - 396

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários

3. AMORIM, A. G., PIRES, I. S. O., TIRAPEGUI, J.
Muscle damage in rats submitted to moderate physical training and dietary deficiency in magnesium In: 11th annual Congress of the European College of Sports Science, 2006, Lausanne.

Annals of the 11th annual Congress of the European College of Sports Science. , 2006. v.11. p.350 - 350

Referências adicionais : Zimbábue/Inglês. Meio de divulgação: Vários

4. AMORIM, A. G., MENDES-NETTO, R. S., COLLI, C.
Comparação entre valores analisados e de tabelas de composição da concentração de magnésio total de alimentos fonte de magnésio da adequação na dieta de praticantes de musculação não profissionais e de maratonistas profissionais do sexo masculino In: 7o Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Alimentação e nutrição: avanços tecnológicos e desafios éticos, 2003, Belo Horizonte.

Anais do 7o Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição.

Alimentação e nutrição: avanços tecnológicos e desafios éticos. Belo Horizonte, 2003, p.164 (anais).., 2003. p.95 - 95

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

5. MENDES-NETTO, R. S., CHIEBAO, H. P., AMORIM, A. G., COLLI, C.
Magnésio ingerido, eritrocitário e urinário em indivíduos com treinamento de força In: 7o Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Alimentação e nutrição: avanços tecnológicos e desafios éticos., 2003, Belo Horizonte.

Anais do 7o Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Alimentação e nutrição: avanços tecnológicos e desafios éticos., 2003. p.164 - 164

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários

6. AMORIM, A. G., MENDES-NETTO, R. S., VASQUEZ, J. W. P., BLANDINO, E. C., COLLI, C.

Novos conceitos na avaliação da adequação de magnésio na dieta de praticantes de musculação não profissionais e de maratonistas profissionais do sexo masculino In: 7o Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Alimentação e nutrição: avanços tecnológicos e desafios éticos., 2003, Belo Horizonte.

Anais do 7o Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição., 2003. v.1. p.191 - 191

Referências adicionais : Brasil/Português.

7. AMORIM, A. G., MENDES-NETTO, R. S., VASQUEZ, J. W. P., BLANDINO, E. C., COLLI, C.

Conteúdo dietético e fontes alimentares de magnésio na dieta de praticantes de musculação e de maratonistas do sexo masculino In: VI Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Nutrição e alimentação: da adequação à excelência, 2001, Florianópolis.

VI Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Nutrição e alimentação: da adequação à excelência (livro de resumos).., 2001. p.92 - 92

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

8. MENDES-NETTO, R. S., AMORIM, A. G., COLLI, C.

Efeito da suplementação com creatina sobre a composição corporal em praticantes de musculação-estudo piloto In: VI Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Nutrição e alimentação: da adequação à excelência, 2001, Florianópolis.

VI Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Nutrição e alimentação: da adequação à excelência (livro de resumos).., 2001. p.93 - 93

9. SILVA, A. P. S., SARDINHA, F. A. A., MARI, E. T. L., VIEIRA, M. S. R., AMORIM, A. G., COLLI, C.

Avaliação nutricional de atletas de pólo aquático feminino em fase pré-competitiva In: V Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Nutrição: perspectivas para o próximo século, 1999, São Paulo.

V Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. Nutrição: perspectivas para o próximo século (livro de resumos)., 1999. p.66 - 66

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários

10. AMORIM, A. G., AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C.

Caracterização sócio-econômica e de saúde de gestantes adolescentes In: 51a Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC; VI Jornada Nacional de Iniciação Científica, 1999, Porto Alegre.

Anais da VI Jornada Nacional de Iniciação Científica da 51a Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC., 1999. p.78 - 78

Referências adicionais : Brasil/Português.

11. AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C., ALMEIDA, P. C., AMORIM, A. G.

Dieta consumida por gestantes adolescentes In: I Congresso Latino-Americano de Nutrição Humana, 1999, Gramado.

Anais do I Congresso Latino-Americano de Nutrição Humana., 1999.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários

12. AMORIM, A. G., AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C.
Caracterização sócio-econômica e de saúde de gestantes adolescentes In: III Semana Universitária da UECE, 1998, Fortaleza.

Anais do VII Encontro de Iniciação Científica. , 1998. v.1. p.141 - 141

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

13. AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C., AMORIM, A. G., PERES, E. C.
Fatores de risco associados a gestante adolescente In: IV Congresso Brasileiro de Epidemiologia, 1998, Rio de Janeiro.

IV Congresso Brasileiro de Epidemiologia. , 1998.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

14. AMORIM, A. G., AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C.
Hábito alimentar de gestantes adolescentes a partir da comparação com a pirâmide de alimentos In: III Semana Universitária da UECE, 1998, Fortaleza.

Anais do VII Encontro de Iniciação Científica. , 1998. v.1. p.185 - 185

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

15. AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C., AMORIM, A. G., PERES, E. C.
Hábitos alimentares de gestantes adolescentes In: IV Congresso Brasileiro de Epidemiologia, 1998, Rio de Janeiro.

IV Congresso Brasileiro de Epidemiologia. , 1998.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

16. AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C., AMORIM, A. G., PERES, E. C.
Hábitos e consumo alimentar de gestantes adolescentes In: IV Congresso Brasileiro de Epidemiologia, 1998, Rio de Janeiro.

Anais do IV Congresso Brasileiro de Epidemiologia. , 1998. p.357 - 357

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários

17. AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C., AMORIM, A. G.
Preferências, desejos e crenças alimentares de gestantes adolescentes In: X Congresso Brasileiro de Nutrição, 1998, Brasília.

X Congresso Brasileiro de Nutrição. , 1998.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

18. AMORIM, A. G., AZEVEDO, D. V., SAMPAIO, H. A. C.
Nutrição da gestante adolescente - conhecimentos, atitudes e práticas alimentares In: II Semana Universitária da UECE - VI Encontro de Iniciação Científica, 1997, Fortaleza.

Anais do VI Encontro de Iniciação Científica. , 1997. p.164 - 164

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

Artigos em revistas (Magazine)

1. PEREIRA, R., AMORIM, A. G.
Água que alimenta. Saúde! É Vital. São Paulo, v.226, p.18 - 22, 2002.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Vários, Home page: www.revistasauade.com.br

Demais produções bibliográficas

1. AMORIM, A. G.
Sou adepto dos vegetais: realmente eles suprem minhas necessidades orgânicas?.
Resumo de palestra. São Paulo:EDUSP, 2003. (Outra produção bibliográfica)

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

"Sou adepto dos vegetais: realmente eles suprem minhas necessidades orgânicas?" – ministrada através da disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo no projeto Universidade Aberta à Terceira Idade, da Pró-reitoria de Cultura e Extensão Universitária. São Paulo, 21 de Agosto de 2003, das 9 às 10h30.

Produção Técnica

Demais produções técnicas

1. COLLI, C., Yañez, E., AMORIM, A. G.

Simpósio: Minerais em Dietas Iberoamericanas - Avaliação do Estado Nutricional, 2003. (Outro, Organização de evento)

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

2. AMORIM, A. G.

Sou adepto dos vegetais: realmente eles suprem minhas necessidades orgânicas?, 2003. (Extensão, Curso de curta duração ministrado)

Referências adicionais : Brasil/Português. 2 horas. Meio de divulgação: Impresso

3. BRITO, M.S.B., AMORIM, A. G.

Projeto de Extensão em Educação e Saúde, 1996. (Outra produção técnica)

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Outro