

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO ESPECIALIZAÇÃO EM NUTRIÇÃO CLÍNICA**

**PRICILA ROMÃO MARCONDES ÁVILA**

**TAURINA REVERTE O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO PELO**  
**EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO EM AORTA DE RATOS**

**CRICIÚMA, JULHO, 2011**

**PRICILA ROMÃO MARCONDES ÁVILA**

**TAURINA REVERTE O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO PELO  
EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO EM AORTA DE RATOS**

Monografia apresentada à Diretoria de Pós-graduação, nível *lato sensu*, da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, para a obtenção do título de especialista em Nutrição Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Teodoro de Souza

**CRICIÚMA, JULHO, 2011**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a essa força maior que move o nosso maravilhoso Universo.

Aos meus pais por inculcar em mim o pensamento de que: “saber nunca é demais”. Aos meus anjinhos Rafael e Gabriel pela ausência em tantos finais de semana, ao Paulo, meu maravilhoso companheiro, por sempre me incentivar. Ao meu sogro por me apoiar e escutar pacientemente minhas idéias e planos para o futuro.

Ao meu professor e orientador Dr. Claudio Teodoro de Souza pela paciência em esperar o meu “amadurecer” para esse novo universo que eu estou conhecendo no LAFIBE.

A todo o laboratório de bioquímica e fisiologia do exercício – LAFIBE - por sempre estarem à disposição para sanar qualquer dúvida minha. E em especial à Gabrielle da Luz e a Viviane Acunha, minhas companheiras nessa “luta” pelo conhecimento.

**“O homem que venceu na vida é aquele que acreditou em si, riu muitas vezes e amou muito. Que conquistou o respeito dos homens e o amor das crianças, que preencheu um lugar e cumpriu uma missão, que deixou um mundo melhor do que encontrou. Que procurou o melhor nos outros e deu o melhor de si”.**

**Autor desconhecido**

## RESUMO

A prática de exercícios físicos aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio e conseqüentemente de danos oxidativos. Estudos demonstram que a suplementação com antioxidante é importante no combate ao dano oxidativo produzido em diversas ocasiões, principalmente aqueles induzido pelo exercício físico agudo. Entre esses antioxidantes podemos destacar a taurina, um aminoácido produzido a partir da metionina e abundante no organismo humano. Porém, não se sabe ainda os efeitos da suplementação de taurina após prática de exercício físico agudo. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da suplementação de taurina sobre os parâmetros de dano oxidativo induzidos pelo exercício físico agudo na aorta de ratos. Foram utilizados 80 ratos *Wistar* machos, com dois meses de idade, pesando entre 250-300 g, divididos aleatoriamente em quatro grupos, com espaço amostral de 20: controle (cont), controle não exercitado suplementado com taurina (cont + tau), grupo exercício agudo (exercício), grupo exercício agudo suplementado com taurina (exer + tau). Os animais foram submetidos a natação por um período de três horas de duração e sem sobrecarga atrelada ao corpo. A taurina foi administrada por gavagem oral, na dosagem de 300 mg/Kg de peso corporal de rato, diariamente, por cinco dias anterior ao protocolo de exercício agudo. Imediatamente, após o protocolo de exercício, os ratos foram mortos e as aortas removidas cirurgicamente. Como marcador de dano oxidativo foram avaliados atividade de ânion superóxido, nitrito e nitrato, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico e carbonilação de proteína. Foi avaliado também a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx). A diferença entre os grupos foi avaliada por ANOVA e os resultados expressos como médias  $\pm$  EPM. As diferenças entre os grupos menores que 0,05 foram consideradas significativas. Os resultados demonstram que o protocolo de exercício aumentou o nível de superóxido e do dano oxidativo na aorta de ratos, porém, o grupo que foi suplementado com taurina teve uma redução nos níveis de superóxido. Foi observado também que o grupo suplementado com taurina teve um aumento na expressão de enzimas antioxidantes. A atividade da catalase não demonstrou ser diferente entre os grupos. Nesse estudo, a suplementação com taurina levou a uma diminuição no dano oxidativo e um aumento na expressão das enzimas antioxidantes. Esses resultados analisados em conjunto comprovam os efeitos da taurina como antioxidante. O presente estudo demonstra os efeitos antioxidantes da suplementação de taurina, porém sua suplementação em pacientes com problemas cardiovasculares praticantes de atividades físicas merecem maiores investigações.

**Palavras-chave:** Taurina. Exercício físico agudo. Estresse Oxidativo. Antioxidantes.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Produção de superóxido e danos oxidativos em aorta de ratos após exercício agudo ..... 31

Figura 2- Atividade e expressão das enzimas antioxidante na aorte de ratos após exercício físico agudo. .... 32

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\cdot\text{NO}$  - Óxido Nítrico

$\cdot\text{NO}_2$  - Radical Dióxido de Nitrogênio

$^1\text{O}_2$  - Oxigênio Singlete

ATP - Adenosina Trifosfato

Ca – Cálcio

CAT- Catalase

DCV – Doenças Cardiovasculares

DM – Diabetes Mellitus

DNA - Ácido desoxirribonucléico

DNPH – Dinitrofenilhidrazina

ERN – Espécies Reativas de Nitrogênio

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

ERON – Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio

GPX- Glutathione peroxidase

$\text{H}_2\text{O}_2$  - Peróxido de Hidrogênio

$\text{HO}\cdot$  - Radical Hidroxil

HOCl - Ácido Hipocloroso

$\text{L}\cdot$  - Radical Áquila

LDL – lipoproteína de baixa densidade

$\text{LO}\cdot$  – Alcoxila

$\text{LOO}\cdot$  - Radical Peroxila

LPO - Lipoperoxidação

NAD + - Nicotinamida-Adenina Dinucleotídeo

NADH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo

NADPH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidase

NOS - Óxido Nítrico Sintase

$O_2^{\bullet-}$  - Ânion Superóxido

$O_3$  - Ozônio

$ONOO^-$  - Peroxinitrito

PUFA - Ácidos Graxos Poliinsaturados

RL – Radicais Livres

SOD- Superóxido dismutase

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences

SUS – Sistema Único de Saúde

TBARS – espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2.OBJETIVO .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Objetivo Específico .....</b>	<b>10</b>
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Distúrbios Relacionados às Doenças Cardiovasculares e Estresse Oxidativo .....</b>	<b>11</b>
<b>3.2 Produção de Radicais Livres, Estresse e Dano Oxidativo .....</b>	<b>12</b>
<b>3.3 Sistema de Defesa Antioxidante .....</b>	<b>17</b>
<b>3.4 Taurina .....</b>	<b>19</b>
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>23</b>
<b>4.1 Animais .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2 Protocolo de Tratamento .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.1 Suplementação de Taurina.....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.2 Protocolo de Exercício Agudo .....</b>	<b>24</b>
<b>4.3 Ensaios Bioquímicos .....</b>	<b>24</b>
<b>4.3.1 Preparação do Tecido para Análise Bioquímica .....</b>	<b>24</b>
<b>4.3.2 Ânion Superóxido.....</b>	<b>25</b>

<b>4.3.3 Nitrito/ Nitrato .....</b>	<b>25</b>
<b>4.3.4 Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) .....</b>	<b>25</b>
<b>4.3.6 Carbonilação de Proteínas .....</b>	<b>26</b>
<b>4.3.7 Catalase (CAT) e Superóxido Dismutase (SOD) .....</b>	<b>26</b>
<b>4.3.8 Determinação de Proteínas: .....</b>	<b>26</b>
<b>4.4 Análises de Proteína por Immunoblotting .....</b>	<b>27</b>
<b>4.5 Análise Estatística .....</b>	<b>28</b>
<b>5 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS .....</b>	<b>29</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) lideram os índices de morbidade e mortalidade no mundo, aparecendo em primeiro lugar entre as causas de morte no Brasil, representando quase um terço dos óbitos totais e 65% do total de mortes na faixa etária de 30 a 69 anos de idade, atingindo a população adulta em plena fase produtiva. No Sistema Único de Saúde (SUS), essas doenças foram responsáveis, em 2002, por mais de 1,2 milhões de internações, representaram 10,3% do total de internações e 17% dos gastos financeiros com saúde. A região Sul, e o estado do Rio Grande do Sul, em particular, registram as maiores proporções, sendo responsáveis por 40% das mortes em mulheres. O fumo, a obesidade, o diabetes mellitus, a hipertensão, os níveis elevados de colesterol, a história familiar de doença arterial coronariana e a falta de exercícios aumentam o risco de desenvolver a doença (GOTTLIEB *et al*, 2010; PINHO *et al*, 2010).

Sabe-se atualmente que o aumento do estresse oxidativo pode contribuir para a patogênese das doenças cardiovasculares. Estudos clínicos e experimentais têm sugerido que essas doenças estão associadas com o aumento da formação de radicais livres e com a redução das defesas antioxidantes (LORGERIL *et al.*, 2001).

O estresse oxidativo está relacionado a situações onde os mecanismos celulares pró-oxidantes (produção de espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio) superam os mecanismos de defesas incluindo os sistemas enzimáticos e outros antioxidantes, ocasionando elevada produção de espécies reativas (VALKO *et al.*, 2007).

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, mesmo quando presente em baixas concentrações, quando comparada a do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo de maneira eficaz (SIES; STAHL, 1995).

Diversos estudos têm demonstrado um aumento na produção de radicais livres após a prática de exercícios físicos e na tentativa de reduzir os efeitos deletérios provocados pelas espécies reativas de oxigênio, alguns autores têm sugerido a suplementação com antioxidantes (SILVA *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2008; SAHECK *et al.*, 2003); dentre eles, a taurina (um aminoácido produzido a partir da metionina) vem demonstrando possuir efeito antioxidante protetor contra as ERO (LOURENCO; CAMILO, 2002; BIRDSALL, 1998; DAWSON, *et al.*, 2002).

A taurina é um aminoácido enxofrado que não se incorpora a uma proteína e, portanto, tem um papel antioxidante muito importante pelo fato de ser um carregador de enxofre. Ela é o aminoácido livre mais abundante nos tecidos, como os músculos e o sistema nervoso central. Sua ação não está totalmente esclarecida, mas entre suas funções podemos destacar a sua função antioxidante, a estabilização de membranas e a modulação do fluxo de cálcio (PASCOAL *et al.*, 2008). Neste sentido, no presente estudo objetivamos verificar se a suplementação de taurina é capaz de reverter o estresse oxidativo em aorta de ratos, induzida pelo exercício físico agudo.

## 2.OBJETIVO

### 2.1 Objetivo Geral

Verificar os efeitos da suplementação de taurina sobre os parâmetros de dano oxidativo induzidos pelo exercício físico agudo em aorta de ratos.

### 2.2 Objetivo Específico

- a) Avaliar a produção de ânion superóxido após prática de exercício físico agudo na aorta de ratos;
- b) Avaliar o dano oxidativo induzido pelo exercício físico agudo na aorta de ratos;
- c) Avaliar a atividade e a expressão das enzimas antioxidantes endógenas SOD, CAT e GPX induzido pelo exercício físico agudo na aorta de ratos;
- d) Avaliar os efeitos antioxidante da taurina, sobre os parâmetros de estresse oxidativo, induzidos pelo exercício físico na aorta de ratos.

### **3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **3.1 Distúrbios Relacionados às Doenças Cardiovasculares e Estresse Oxidativo**

Nas últimas décadas, o papel dos Radicais Livres (RL) ou Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) em processos fisiopatológicos relacionados a fatores de risco cardiometabólicos têm sido intensamente investigados. Um número consistente de evidências sugere a associação do estresse oxidativo e condições clínicas como as doenças cardiovasculares, diabetes mellitus (DM), neoplasias, doenças respiratórias e distúrbios neurológicos (GOTTLIEB *et al*, 2010).

A hipótese mais aceita atualmente, postula que essas doenças estejam agrupadas em duas categorias distintas. A primeira categoria estaria associada ao estresse oxidativo mitocondrial, onde se encontram a DM e as neoplasias, que apresentam comumente mudanças pró-oxidativas no estado redox sistêmico. E a segunda categoria estaria associada com condições inflamatórias relacionadas ao metabolismo oxidativo, uma vez que, apresenta frequentemente uma excessiva estimulação da atividade da enzima Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo/ Nicotinamina Adenina Dinucleotídeo Fosfato oxidase (NADH/NADPH) através de citocinas ou outros agentes. Nesse caso, o aumento nas taxas de produção de ERO ou mudanças nos níveis de glutathione estão, frequentemente, associados a condições patológicas, como, por exemplo, a aterosclerose (GOTTLIEB *et al*, 2010).

### 3.2 Produção de Radicais Livres, Estresse e Dano Oxidativo

Moléculas ou fragmentos moleculares altamente reativos, que contêm um elétron não pareado em sua última camada eletrônica são denominados radicais livres (RL). Sua produção está relacionada com o equilíbrio de valência na camada mais externa da molécula. Quando formados, os RL tendem a extrair elétrons de outras moléculas para alcançar um estado quimicamente mais estável. Esses radicais livres cujo elétron encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e Nitrogênio (ERN), respectivamente (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

As ERO incluem o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxil ( $HO^{\bullet}$ ), radical Áquila ( $L^{\bullet}$ ), alcoxila ( $LO^{\bullet}$ ) e radical peroxila ( $LOO^{\bullet}$ ). Nas ERN estão incluídos além do óxido nítrico ( $^{\bullet}NO$ ), o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) e o radical dióxido de nitrogênio ( $^{\bullet}NO_2$ ). Existem ainda espécies que não são RL, mas podem induzir reações radicalares ao organismo, por isso, consideradas espécies reativas, tais como: o ácido hipocloroso ( $HOCl$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) e o ozônio ( $O_3$ ) (MATSUBARA, FERREIRA, 1997).

Quando em equilíbrio com o sistema, as ERO são importantes para o organismo, auxiliando nos mecanismos de defesa do sistema imune. Por exemplo, quando as células são agredidas por algum agente estressor, que também pode ser um RL, elas acabam produzindo RL para combater estes agentes. Essa produção é necessária em vários processos biológicos, como: produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes (BARREIROS; DAVID, 2006). Em contrapartida, essas substâncias são capazes de reagir com qualquer tipo de molécula orgânica,

extraindo elétrons e gerando novas ERO em cadeias citotóxicas (AMES *et al*, 1993). Existem ERO muito prejudiciais ao organismo, como o HO\*, que reage indiscriminadamente com a maioria dos compostos orgânicos essenciais à integridade e função dos organismos vivos, como as biomoléculas (KOURY; DONANGELO, 2003).

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a formação de ERO e a capacidade antioxidante celular, onde os mecanismos celulares pró-oxidantes (produção de ERO e ERN) superam os mecanismos de defesas, levando a danos celulares como, por exemplo, peroxidação de lipídios, fragmentação de proteínas e ácidos nucleicos. Portanto, caso não haja nenhum mecanismo de defesa eficiente, esse estado pode trazer prejuízos significativos à célula (HALLIWELL; GUTTERRIDGE, 2007).

Em condições fisiológicas normais, a maioria das ERO é produzida na cadeia respiratória mitocondrial, onde 95-98% do oxigênio consumido é reduzido à água e o restante utilizado na formação de ERO (MATSUO; KANEKO, 2001). Além da cadeia respiratória mitocondrial, as ERO podem ser geradas em outros eventos bioquímicos na célula, por exemplo, em processos inflamatórios e a degradação da xantina para ácido úrico (KÖNIG, BERG, 2002).

Segundo Schneider e Oliveira, (2004), durante a atividade física, a demanda energética pode superar em 35 vezes a demanda de repouso. Dessa forma, durante a sua realização ocorre um grande aumento no consumo de oxigênio, na sua maior parte em decorrência do aumento de trabalho muscular. Esse aumento no consumo de oxigênio leva a um aumento, em 10 a 15 vezes maior, na produção de ERO, que podem ocorrer das seguintes maneiras:

- a) Interrupções temporárias das bombas de ATP dependentes de cálcio

(Ca<sup>2+</sup>) levam ao aumento das concentrações intracelulares de cálcio, o que durante o exercício pode ativar a via da xantina oxidase. Concentrações aumentadas de cálcio intramuscular durante períodos de exercício de alta intensidade podem ativar as proteases dependentes de cálcio, as quais convertem a xantina desidrogenase em xantina oxidase. A xantina oxidase usa o oxigênio molecular ao invés do NAD<sup>+</sup> como aceitante de elétrons e assim gera o radical superóxido;

- b) Períodos de exercício intenso podem aumentar o estresse oxidativo devido à hipóxia e reoxigenação temporárias, que ocorrem no músculo exercitado em função das contrações e relaxamentos estabelecidos ciclicamente. Durante a contração, a compressão vascular estabelece um quadro de isquemia e, portanto, de hipóxia. No relaxamento, ocorre a reperfusão e, conseqüentemente, a reoxigenação. Sob condições de hipóxia, os equivalentes reduzidos podem se acumular dentro da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, resultando em um fenômeno conhecido como estresse redutivo. Na reoxigenação, uma explosão (burst) de reduções monoeletrônicas pode converter o oxigênio molecular em radical superóxido;
- c) A ativação de leucócitos pode estimular a produção de radicais livres para melhorar os mecanismos de defesa do hospedeiro em resposta ao dano muscular induzido pelo exercício. Em particular, os neutrófilos podem reduzir o oxigênio molecular a radical superóxido via NADPH oxidase, a qual está inativa nas células em repouso. Processos similares têm sido observados em monócitos e eosinófilos;

- d) O aumento das concentrações de  $\text{Ca}^{++}$  pode ativar a enzima fosfolipase A2, a qual libera o ácido araquidônico a partir dos fosfolídeos. A ciclooxigenase reage com o ácido araquidônico para gerar o radical hidroxil;
- e) Condições hipóxicas também têm sido mostradas no aumento da atividade da enzima óxido nítrico sintase (NOS), levando à formação de radicais do óxido nítrico. Estes radicais podem exercer um efeito pró-oxidante fraco por eles próprios ou se combinar com o superóxido para formar um oxidante mais potente, o peroxinitrito.

Conforme exposto acima, fica claro perceber que durante o exercício agudo, a possibilidade de ocorrer lesão oxidativa nos tecidos vai depender de um preciso equilíbrio entre a geração de radicais de oxigênio e a eficácia dos mecanismos antioxidantes (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Os RL podem atacar todas as principais classes de biomoléculas, sendo os lipídios os mais susceptíveis. Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) das membranas celulares são rapidamente atacados por radicais oxidantes. A destruição oxidativa dos PUFA, conhecida como lipoperoxidação (LPO), é bastante lesiva por desencadear uma reação de autopropagação na membrana (KOURY; DONANGELO, 2003). Por definição, segundo Lima e Abdalla (2001), a LPO pode ser uma cascata de eventos bioquímicos resultante da ação dos RL sobre os lipídios insaturados das membranas celulares, levando à destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e, numa condição extrema, à morte celular.

Essas alterações na membrana levam a transtornos da permeabilidade, alterando o fluxo iônico e o fluxo de outras substâncias, o que resulta na perda da seletividade para a entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula, alterações de DNA, oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e comprometimento dos componentes da matriz extracelular (proteoglicanos, colágeno e elastina) (BARREIROS; DAVID, 2006). Durante a LPO, intermediários podem sofrer quebras gerando hidrocarbonetos de cadeia curta (etano, pentano), aldeídos (como o malonaldeído, 4-hidroxinonenal), epóxidos e outros produtos altamente citotóxicos (BARREIROS; DAVID, 2006).

De acordo com Halliwell e Gutteridge (2007), a LPO consiste em três fases: iniciação, propagação e término. Na fase de iniciação o RL remove um átomo de hidrogênio do ácido graxo insaturado produzindo um radical de lipídio, que ao reagir com o oxigênio molecular forma o radical peroxila. Na propagação, o radical peroxila retira do hidrogênio de outro lipídio, formando o hidroperóxido de lipídio e radical de lipídio e assim sucessivamente. Na fase terminal, os radicais produzidos se combinam formando um não-radical. O hidroperóxido de lipídio pode sofrer outras reações produzindo aldeídos e alcanos.

As proteínas também são alvo de ataques das ERO. A oxidação dos aminoácidos resulta na formação de grupos carbonil, tióis oxidados, entre outras modificações que alteram a função normal da proteína. Especificamente, os grupos carbonil são formados principalmente a partir da oxidação de alguns aminoácidos mediados por ERO, como lisina, arginina, prolina e treonina. Porém, reações secundárias de cadeias laterais de alguns aminoácidos (cisteína, lisina e histidina) com subprodutos da LPO e da oxidação de carboidratos, também formam grupos carbonil (DALLE-DONNE *et al*, 2003).

Nos aminoácidos e proteínas, o HO• pode reagir na cadeia lateral, onde ataca preferencialmente cisteína, histidina, triptofano, metionina e fenilalanina e, em menores proporções, arginina e asparagina. Os ataques aos aminoácidos que compõem as proteínas podem gerar danos como clivagens de ligações com ou sem geração de fragmentos e ligações cruzadas, o que pode ter como consequência perda da atividade enzimática, dificuldades no transporte ativo através das membranas celulares, citólise e morte celular (BARREIROS; DAVID, 2006). O ataque ocorre por adição do radical ou por abstração de hidrogênio. Todos os aminoácidos podem sofrer abstração do hidrogênio do carbono C $\alpha$  –COO- ligado ao carboxilato e ao grupo amino. Essa abstração, com exceção da glicina, leva à perda de gás carbônico e formação de carbono radicalar (BARREIROS; DAVID, 2006).

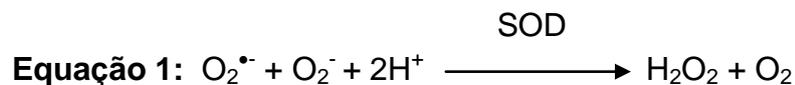
Observa-se que a oxidação de proteínas depende dos níveis de proteossomas intracelulares. De acordo com Davies e Shingarpure (2006), os danos em proteínas oxidadas. Proteases intracelulares são responsáveis por 70% a 80% da degradação de proteínas após a oxidação, e esse mecanismo é essencial para os sistemas de reparo e antioxidantes. Assim, o proteossoma constitui uma parte importante do sistema de defesa antioxidante.

### **3.3 Sistema de Defesa Antioxidante**

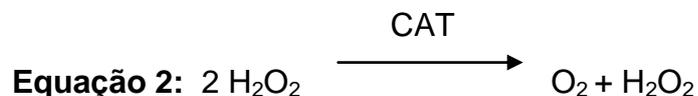
A produção contínua de RL durante os processos metabólicos leva as células a desenvolverem mecanismos de defesa que controlam os níveis de RL e impedem a indução de danos, os antioxidantes. Esses agentes que protegem as células contra os efeitos dos RL podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos ou não enzimáticos (SIES, 1993).

As principais enzimas antioxidantes incluem a superóxido dismutase (SOD) a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPX) que são ativadas normalmente durante o metabolismo celular, porém, suas atividades podem aumentar em função da presença de ERO (PINHO, *et al*, 2004).

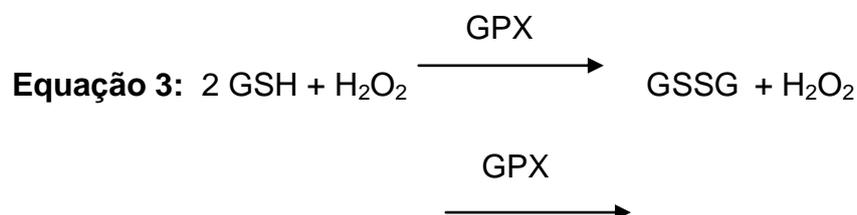
A SOD constitui a primeira linha de defesa enzimática contra a produção intracelular de RL, catalisando a dismutação do  $O_2^{\bullet-}$  para  $H_2O_2$  (HOLLANDE; *et al*, 2000). Está presente na matriz mitocondrial (Mn-SOD), no citosol (CuZn-SOD) e no meio extracelular.



A enzima CAT catalisa a degradação do  $H_2O_2$ . Na reação, uma das moléculas de  $H_2O_2$  é oxidada a oxigênio molecular e a outra é reduzida à água (CHANCE *et al*, 1979). Está localizada, principalmente, no peroxissoma, entretanto, outras organelas como as mitocôndrias podem conter alguma atividade da CAT.



A GPX é uma enzima selênio-dependente que catalisa a redução do  $H_2O_2$  e hidroperóxidos orgânicos para água e álcool, usando a glutathione como doador de elétrons. A GPX está localizada tanto no citosol quanto na matriz mitocondrial (MIYAMOTO *et al*, 2003).





Os antioxidantes não enzimáticos, em sua maioria são exógenos, ou seja, necessitam ser absorvidos pela alimentação apropriada. Várias são as substâncias utilizadas como suplemento nutricional para reduzir o estresse oxidativo e melhorar a performance. Dentre esses destacam-se alguns minerais (cobre, manganês, zinco, selênio e ferro), vitaminas (ácido ascórbico, vitamina E, vitamina A), carotenóides (beta-caroteno, luteína e licopeno), bioflavonóides (genesteína, quercetina), taninos (catequinas), proteínas extracelulares ligantes de ferro e cobre (como a albumina, transferrina, lactoferrina, ferritina, haptoglobina e ceruloplasmina), alguns aminoácidos como a taurina, entre outros (BARREIROS; DAVID, 2006). Atualmente, a taurina vem sendo utilizada por alguns indivíduos na tentativa de melhorar a tolerância e promover melhora no rendimento (MERO *et al*, 2008; GALLOWAY *et al*, 2008). Evidências demonstram que a taurina possui efeito antioxidante protetor contra as ERO (LOURENCO; CAMILO, 2002). Entretanto, ainda não se sabe qual seu efeito capaz de reverter o quadro de estresse oxidativo em animais após protocolo de exercício físico agudo.

### 3.4 Taurina

A taurina foi primeiramente descoberta e isolada pelos pesquisadores austríacos Friedrich Tiedemanne e Leopold Gmelin em 1827 ao ser encontrada na bile do boi em altas concentrações. Seu nome originou-se do nome em latim da espécie *Bos taurus* onde foi descoberta (OLIVEIRA, 2008).

A taurina foi historicamente considerada um nutriente essencial para a

nutrição humana em meados da década de 70, quando foi observado que bebês prematuros, alimentados com nutrição parenteral não conseguiam manter níveis plasmáticos e urinários normais de taurina, ao contrário de bebês alimentados com leite materno. O estudo do leite materno indicou grandes quantidades de taurina, sendo o segundo aminoácido mais abundante, atrás apenas do glutamato (AGOSTONI *et al*, 2000 apud OLIVEIRA, 2008). A deficiência de taurina está associada a diversos processos patológicos. Incluindo cardiomiopatia, degeneração da retina e retardo no crescimento especialmente se esta privação ocorre em fase de desenvolvimento (OLIVEIRA, 2008).

A taurina (2-amino-etano-sulfônico) é um aminoácido essencial sulfurado e possui características próprias diferenciando-se dos demais aminoácidos. É mais ácido que os demais aminoácidos por conter em sua estrutura o grupo sulfônico (SO<sub>3</sub>H) em substituição ao grupo carboxila (COOH) e por possuir o radical amina na posição β (beta) (HUXTABLE, 1992; BRITO, VOLP, 2008). Encontrada livremente no líquido intracelular, é um dos aminoácidos livres mais abundantes no cérebro, músculo esquelético e coração, sendo fundamental importância no desenvolvimento do sistema nervoso central, na modulação do cálcio durante as contrações musculares e na estabilização celulares (SHULLER-LEVIS; PARK, 2003). A concentração de taurina pode variar de tecido para tecido. Segundo Green *et al*, (1991) os níveis no coração são de 25-30mM, no pulmão de 11-17mM e no músculo esquelético, Dawson *et al* (2002) encontraram níveis de 15-20mM por miligrama de tecido.

Em situações normais, a sua necessidade diária pode ser alcançada por meio de uma dieta equilibrada, porém em situações de imaturidade do sistema enzimático e ou em condições de estresse metabólico, suas necessidades

fisiológicas estão aumentadas e, portanto, essa necessita ser suplementada (BRITO; VOLP, 2009). Ela pode então ser obtida por uma dieta rica em frutos do mar, carne e ovos ou pela biossíntese de aminoácidos precursores como a metionina e a cisteína na presença de vitamina B<sub>6</sub> no fígado (HUXTABLE, 1992). Neste processo a taurina é sintetizada pela cisteína dioxigenase que promove a oxidação da cisteína a ácido sulfínico na qual é descarboxilada pela enzima cisteína ácido sulfínico descarboxilase para produzir hipotaurina que é oxidado à taurina (BOUCKENOOGHE *et al*, 2006).

As propriedades antioxidantes da taurina são atribuídas aos seguintes mecanismos:

- a) Equilíbrio osmótico celular: por ser um osmolítico orgânico utilizado pelas células para a regulação do volume celular para se adaptar ao desequilíbrio osmótico produzido durante exercícios físicos intensos. Esse desequilíbrio ativando os metabólicos produziria ERO (CUISINIER, 2002).
- b) Regulação de cálcio: diminuindo os danos oxidativo através da regulação aos íons de cálcio envolvidos na patogênese do dano celular mediadas por RL produzidos na rota da xantina oxidase (CHANG, 2004).
- c) Neutralizar a ação do ácido hipocloroso (HOCL): a estrutura química da taurina faz com que ela reaja com o ácido HOCL formando um composto relativamente estável e não tóxico, o taurina-cloramina (KOZUMBU, 1992).

Silva e colaboradores (2010) constataram que a suplementação de taurina reduz os efeitos do dano oxidativo em exercício excêntrico, através da

diminuição da produção de radical superóxido muscular e dano oxidativo, apesar de não aumentar a atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT. Dawson e colegas (2002) demonstraram que a suplementação com taurina é capaz de reduzir o dano oxidativo induzidos pelo exercício físico, desempenhando um papel citoprotetor, bloqueando o aumento de alguns marcadores de estresse oxidativo. O estresse oxidativo contribui para o dano à membrana celular, aumentando sua permeabilidade, a taurina, segundo Zhang (2004), também pode mediar uma proteção à membrana celular através de sua propriedade estabilizadora de membrana e controlar o equilíbrio de cálcio, cujo desequilíbrio está envolvido na patogênese do dano celular mediado por radicais livres.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Animais**

Foram utilizados oitenta ratos *Wistar*, machos, pesando 250-300g com dois meses idade. Eles foram obtidos a partir de nossa colônia de reprodução (UNESC) e alojados em uma sala com temperatura controlada (24 ° C), com 00:12 h de ciclo reverso claro-escuro. Os ratos foram alimentados com dieta padrão para roedores e água *ad libitum* durante todo o experimento. Os animais foram cuidados em conformidade com os princípios orientadores de cuidado e uso de animais e os protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética (protocolo número - 91/2009) da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC). Os animais foram separados aleatoriamente em quatro grupos: grupo controle (cont) (n = 20), grupo controle não exercitados suplementado com taurina (cont + tau) (n = 20), grupo exercício agudo (exercício) (n = 20), grupo exercício agudo suplementado com taurina (exer + tau) (n = 20). Os ratos foram mortos por decapitação e a aorta removida imediatamente, homogeneizada em tampão específico e armazenados a -70 ° C para análises da expressão protéica por western blot. Para as análises bioquímicas, as amostras foram imediatamente executadas.

### **4.2 Protocolo de Tratamento**

#### **4.2.1 Suplementação de Taurina**

Os animais receberam 300mg/Kg, por peso corporal de rato, de taurina por gavagem oral, uma vez ao dia num período de cinco dias anteriores a realização do protocolo de exercício físico agudo.

#### **4.2.2 Protocolo de Exercício Agudo**

Os animais foram habituados em uma piscina durante dez minutos por dois dias (anterior ao dia do teste agudo) para reduzir a quantidade de estresse causado pelo novo ambiente. No quinto dia os animais foram submetidos a três horas de duração, sem sobrecarga e sem repouso. A temperatura da água foi mantida em ~ 32 ° C. Os animais não treinados foram colocados em uma piscina vazia, pelo mesmo período. Isso foi utilizado para a padronização ambiental. Imediatamente após o protocolo de exercício, os ratos foram mortos e a aorta removida cirurgicamente.

### **4.3 Ensaio Bioquímicos**

#### **4.3.1 Preparação do Tecido para Análise Bioquímica**

O Fragmento da aorta foi rapidamente removida e homogeneizados (1:10 w/v) em tampão SETH, pH 7,4 (250 mM sacarose, 2 mM EDTA, 10 mM Trizma base, 50 IU/mL heparina). O homogeneizado foi centrifugado a 800 X g por 10 min e o sobrenadante foi armazenado a -70°C.

### 4.3.2 Ânion Superóxido

Foi determinada pelo método Fridovch e McCord e expressa em nmol / min / mg de proteína. Superóxido foi determinada de acordo com a taxa de oxidação da adrenalina, determinada pela absorvância a 780 nm.

### 4.3.3 Nitrito/ Nitrato

As concentrações plasmáticas de nitrito e nitrato foram determinados usando um kit comercial colorimétrico de acordo com o método bem reconhecido com base no uso de reagente de Griess (GREEN *et al.*, 1982). Vinte microlitros da amostra analisada foi adicionado a 100 µl de Griess reagente. Mil microlitros H<sub>2</sub>O foi adicionado, a mistura foi agitada e, após 5 min, a absorbância a 540 nm foi determinado. A mistura foi agitada, incubadas por 30-45 min a uma temperatura constante (geralmente 25 ° C), e a absorbância a 550 nm foi determinada, como medida leitora ELISA. Uma amostra com uma concentração próxima de nitrito, nitrato, mas sem, é usado como solução em branco (""um método de ponto).

### 4.3.4 Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A formação de TBARS durante uma reação ácido-aquecimento (Draper e Hadley, 1990) foi utilizado como índice de peroxidação lipídica. Resumidamente, as amostras da aorta foram misturados com 1 ml de ácido tricloroacético 10% e 1 ml de ácido tiobarbitúrico 0,67% e, em seguida, foram aquecidos em água fervente por 30 minutos. TBARS foram determinados pela absorvância a 535 nm usando 1,1,3,3

tetramethoxypropane (Sigma Chemical) como um padrão externo. Os resultados foram expressos como equivalentes de malondialdeído por miligrama de proteína

#### **4.3.6 Carbonilação de Proteínas**

O dano oxidativo às proteínas foi determinado pela medida de grupos carbonil, baseado na reação com dinitrofenilhidrazina (DNPH) (LEVINE *et al*, 1990). As proteínas da amostra da aorta foram precipitados pela adição de 20% de ácido tricloroacético e reagiu com DNPH. As amostras foram então redissolvidas em cloridrato de guanidina 6M-carbonila e conteúdos foram determinados a partir da absorvância a 370 nm, utilizando um coeficiente de absorção molar, de 22 de 0000 M<sup>-1</sup>.

#### **4.3.7 Catalase (CAT) e Superóxido Dismutase (SOD)**

Para determinar a atividade da CAT, os tecidos foram sonicados em tampão fosfato 50 mM e a suspensão resultante foi centrifugado a 3000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a dosagem de enzimas. A atividade da CAT foi medida pela taxa de decréscimo de peróxido de hidrogênio (10 mM) absorvância a 240 nm (AEBI, 1984). A atividade da SOD foi determinada medindo-se a inibição da absorção de auto-oxidação da adrenalina em 480 nm (BANNISTER; CALABRESE, 1987).

#### **4.3.8 Determinação de Proteínas:**

A concentração de proteína nos ensaios de catalase, SOD, carbonila e TBARS foram testadas através do método de Lowry (LOWRY *et al*, 1951).

#### **4.4 Análises de Proteína por Immunoblotting**

Imediatamente após o protocolo de exercício agudo a aorta foi homogeneizada em tampão de extração (1% Triton-X 100, 100 mM Tris, pH 7,4, contendo pirofosfato de sódio 100 mM, fluoreto de sódio 100 mM, 10 mM EDTA, 10 mM de sódio vanadato, 2 mM PMSF e 0,1 mg de aprotinina / ml) a 4 ° C, com uma Polytron MR 2100 (Kinematica, Suíça). Os extratos foram centrifugados a 11.000 rpm e 4 ° C em 5804R Eppendorf (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) por 40 min para remover o material insolúvel, e o sobrenadante deste tecido foi utilizado para quantificação de proteínas, de acordo com o método de Bradford (Bradford , 1976). Proteínas foram desnaturadas por fervura em Laemmli (Laemmli, 1970) tampão de amostra contendo 100 mM DTT, executado em SDS-PAGE, transferidos para membrana. Membranas foram bloqueadas, e blotadas com anticorpos primários. Os anticorpos usados para o immunoblotting foram anti-SOD, anti-CAT, anti-GPx,(Santa Cruz Biotecnologia, Santa Cruz, CA, EUA). A membrana original foi estripada e reblotada com  $\beta$ -actina. A detecção de quimioluminescente foi realizada com anticorpo secundário conjugado com peroxidase. Autoradiografias das membranas foram utilizadas para a visualização de bandas de proteínas. Os resultados dos blots são apresentados como comparações diretas das bandas em autoradiografias e quantificadas por densitometria utilizando o programa Scion Image.

#### **4.5 Análise Estatística**

Os dados bioquímicos foram expressos como média e erro médio padrão e analisados estatisticamente por meio da análise de variância (ANOVA), seguido do teste post hoc de Bonferroni. As diferenças entre os grupos foram avaliados utilizando-se análise de variância (ANOVA), seguido do post hoc Bonferroni. Uma probabilidade menor que 0,05 foi considerada significativa. O software utilizado para análise dos dados foi o Statistical Package for the Social Sciences versão (SPSS) 16.0 for Windows.

## 5 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

A taurina é um aminoácido com papel essencial nos mecanismos de proteção celular. Neste estudo foram analisados os efeitos da suplementação de taurina sobre os marcadores de dano oxidativo em aorta de ratos após a prática de exercício físico agudo.

Nós avaliamos os níveis de superóxido e dano oxidativo na aorta de ratos submetidos à 3 horas de exercício agudo. O exercício agudo aumentou os níveis de superóxido por 3,0 vezes, quando comparado com o grupo controle (não exercitado) (Fig. 1A). Por outro lado, o uso de taurina (exer + tau) reduziu em 2 vezes os níveis de superóxido, quando comparados com o grupo exercício (Fig. 1A). Para avaliar se os níveis elevados de superóxido resultam em dano oxidativo em protocolo de exercício agudo, nós investigamos os níveis de TBARS e carbonil. O conteúdo de TBARS mostrou estar aumento no grupo exercitado quando comparado ao grupo controle ou cont + tau (Fig. 1B). No entanto, quando o grupo exercitado foi suplementado, previamente com taurina, observamos redução tanto nos níveis de ânion superóxido quanto de TBARS (Fig. 1B). Isso demonstra o marcante efeito antioxidante da taurina e que a suplementação desse aminoácido pode prevenir os efeitos de dano oxidativo induzidos pelo exercício; pelo menos para aqueles realizados agudamente. Os níveis de carbonilação não mostraram alterações com o grupo do exercício ou quando esses ratos foram tratados com taurina (exer + tau).

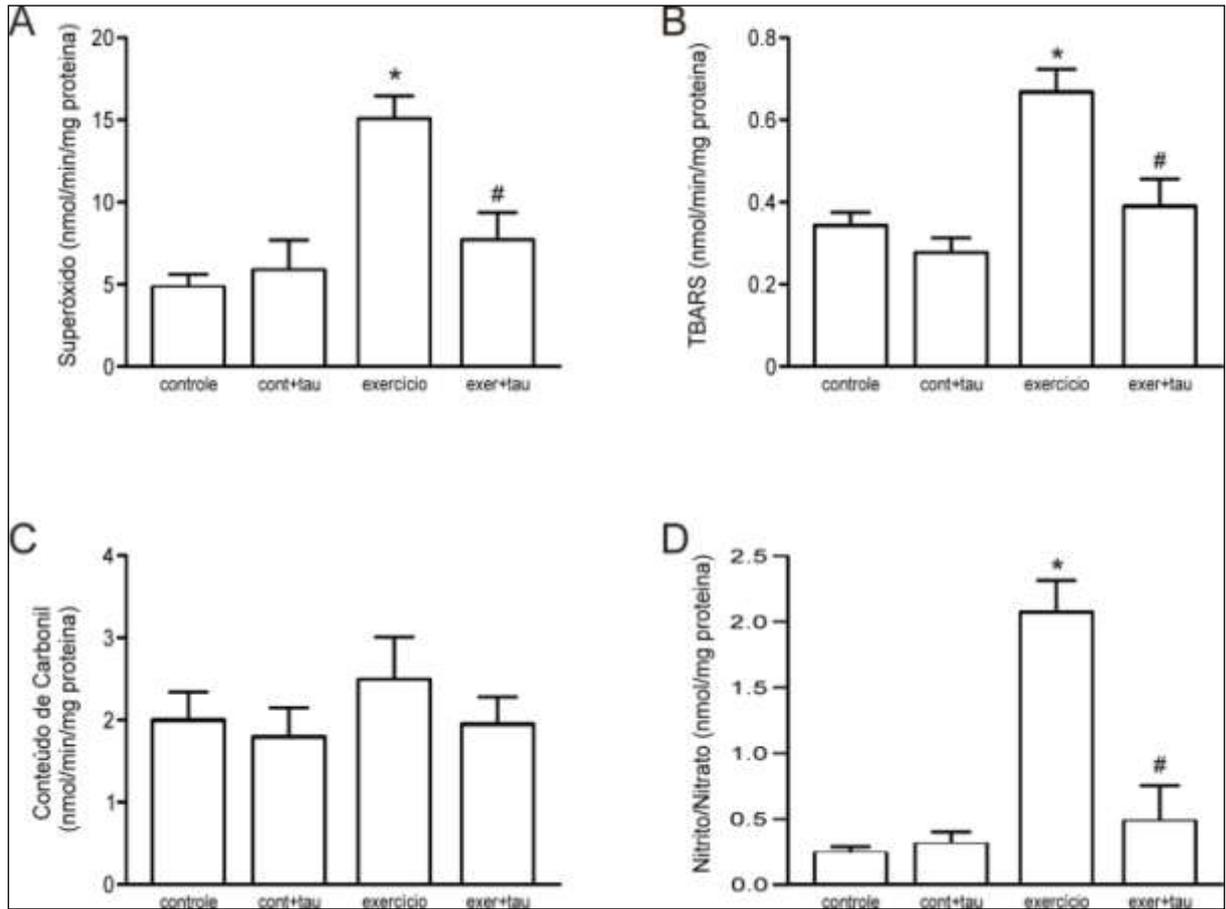
Silva *et al* (2010) utilizando a suplementação de taurina em protocolo de exercício excêntrico, encontrou resultados semelhantes, em que os grupos suplementados com esse antioxidante, tiveram uma diminuição nos níveis de TBARS e Carbonil, porém, não havendo alterações entre os grupos em relação a

enzimas antioxidante CAT e SOD.

O grupo suplementado com taurina teve um aumento de 1,9 vezes quando comparado com o controle na expressão das enzimas antioxidantes (Fig. 2A). Além disso, um aumento de 2,1 vezes foi observado no grupo exercício quando comparado ao grupo controle. No entanto, quando os ratos submetidos ao exercício agudo foram suplementados previamente com taurina houve um aumento de 1,7 vezes quando comparado ao grupo apenas exercitado (grupo exercício) (Fig. 2A). Não houve diferença na atividade da catalase observada entre os grupos controle e cont + tau. Portanto, após o exercício agudo, a atividade da catalase aumentou 2,8 vezes quando comparado ao grupo controle (Fig. 2B). Este aumento foi maior (1,4 vezes) quando os ratos foram suplementados com taurina (exercícios + grupo tau) (Fig. 2B).

Isso demonstra que a suplementação de taurina não só aumenta a atividade das enzimas analisadas como também aumenta a expressão proteica dessas. Dessa forma podemos sugerir que a ação antioxidante da taurina ocorre através de um ganho duplo: tanto pelo aumento da atividade quanto pelo aumento na expressão dessas enzimas.

Nossos resultados estão de acordo com os de outros estudos, que mostraram efeitos protetores de taurina na redução de alguns marcadores de estresse oxidativo que são induzidas pelo exercício (DAWSON, 2002; ZHANG, 2004).



**Figura 1-** Produção de anion superóxido e danos oxidativos em aorta de ratos após exercício agudo. Produção de anion superóxido (A), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (B), conteúdo de carbonil (C) e conteúdo de nitrito/nitrato (D). Barras representam médias  $\pm$  S.E.M. cinco ratos por grupo. \*  $p < 0,05$  exercício, versus grupo controle, #  $p < 0,05$ , exer + tau versus grupo exercício.

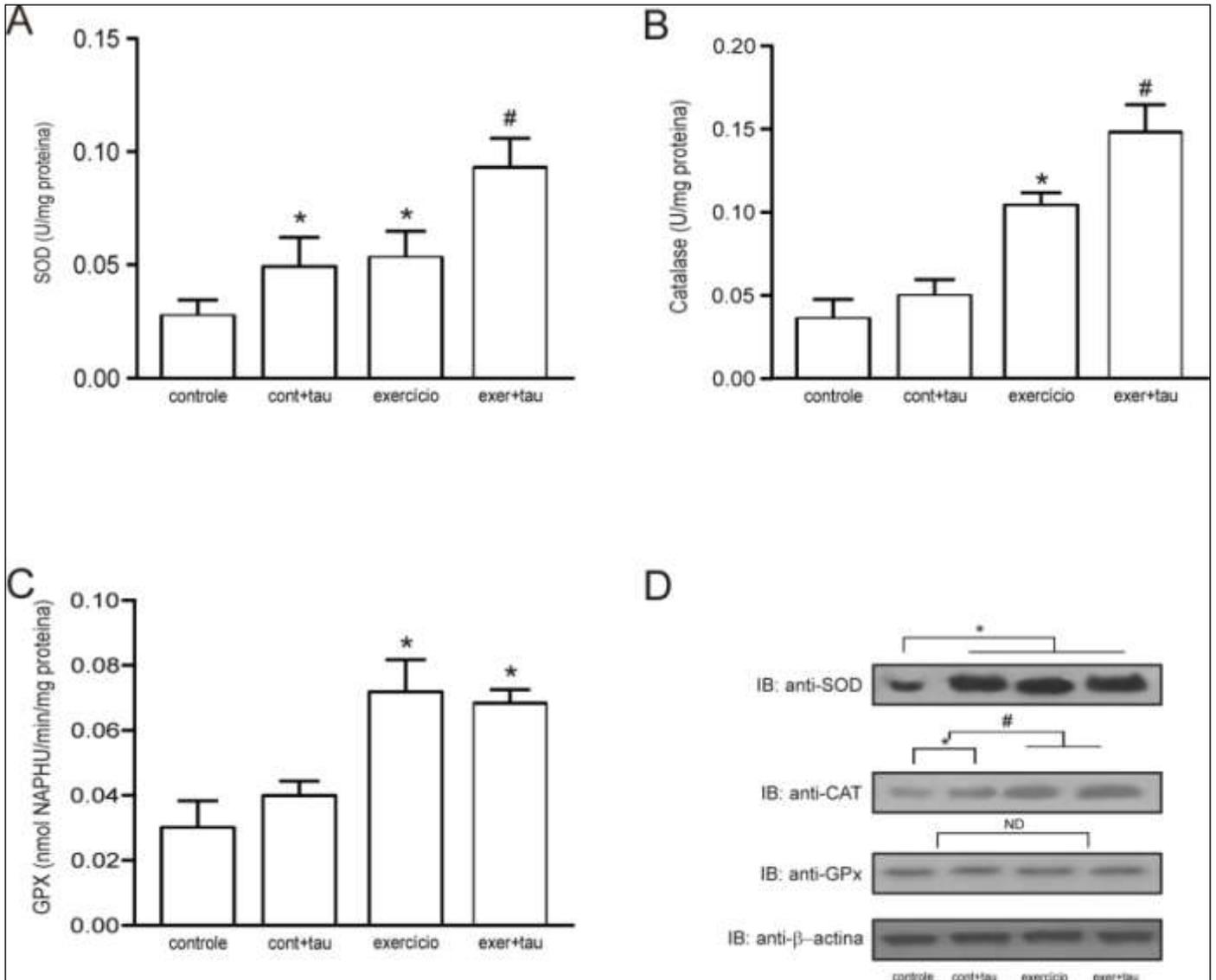


Figura 2- Atividade e expressão das enzimas antioxidante na aorte de ratos após exercício físico agudo. Superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B) e atividade da glutaciona peroxidase (GPx) (C). Em (D), SOD, CAT, GPx e nível da proteína  $\beta$ -actina. Extratos de aorta de ratos foram preparados, como descrito em Métodos. Atividades de enzimas antioxidantes são expressos em U / mg de proteína e os níveis de antioxidantes enzimas de proteínas são expressas como representante bandas. Barras representam médias  $\pm$  S.E.M. de cinco ratos por grupo. \*  $p < 0,05$  exercício, versus grupo controle, #  $p < 0,05$ , exer + tau versus grupo exercício. No nível de proteína CAT (D) \*  $p < 0,05$ , contra tau grupo controle, #  $p < 0,05$ , exer + tau e exercício versus controle e tau grupos.

## 6 CONCLUSÃO

Conclui-se que o protocolo de exercício físico agudo aumenta os níveis de ânion superóxido e dano oxidativo na aorta de ratos. No entanto, a suplementação de taurina reduz os níveis do ânion superóxido, TBARS e nitrito/nitrato. Esse efeito antioxidante da taurina parece estar relacionado à sua capacidade de aumentar a atividade e a expressão da enzima SOD e CAT, mas não da GPx. Esses resultados contribuíram para comprovar os efeitos antioxidantes da taurina em aorta de ratos saudáveis, no entanto, novos estudos são necessários para avaliar sua eficiência em animais com problemas cardiovasculares.

## REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**; v. 105, p. 121–126, 1984.
- AMES, B.N.; SHIGENAGA, M.K.; HAGEN, T.M. Oxidative, antioxidants and the degenerative diseases of aging. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v. 90. p.7915 – 7922.
- BARREIROS,A., DAVID, J. Estresse Oxidativo: Relação Entre Geração De Espécies Reativas e Defesa do Organismo. **Rev Quim Nova**, v.29, p.113-123, 2006.
- BANNISTER, J.,V., CALABRESE, L. Assays for SOD. **Methods Biochem Analyt**, v. 32, p. 279–812, 1987
- BIRDSALL, T.C. Therapeutic applications of taurine. **Alternative Medicine Review**, v. 3, p. 128-36, 1998.
- BRITO, C. J. VOLP, A. C. P. Benefícios Funcionais da Taurina na saúde do consumidor. **Nutrição em Pauta**. Nov/dez, 2009.
- BOUCKENOOGHE, T.; et al. Is taurine a functional nutrient? Curr. Opin. **Clin. Nutr. Metab. Care**. v.9. p. 728-33, 2006.
- CHANCE B; SIES CH; BOVERIS A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiology** v. 59, p. 527-605,1979.
- CUISINIER, C. *et al.* Role of taurine in osmoregulation during endurance exercise. **Eur. J. Appl. Physiol**. v. 87, p. 489- 495, 2002.
- DALLE-DONNE, *et al.* Protein carbonylation in human diseases. Trends in Molecular Medicine, 2003.
- DAVIES, K.J.A.; SHRINGARPURER. Preferential degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome may be inhibited in aging and inflammatory neuromuscular diseases. **Neurology**, v. 66. p. 93-96, 2006.
- DAWSON, R. J. R.; *et al.* The cytoprotective role of taurine in exercise-induced muscle injury. **Amino acids**, v. 22. p. 309-24, 2002.

GALLOWAY, S.D.; et al. Seven days of oral taurine supplementation does not increase muscle taurine substrate metabolism during prolonged exercise in humans. **J. Appl. Physiol.** .v. 105. p. 643-651, 2008.

GREEN, T. R.; et al. Antioxidant role and subcellular localization of hypotaurine and taurine in human neutrophils. **Biochim biophys acta**, v. 1073. p. 91-97, 1991.

GOTTLIEB, M., VALLE, G., CRUZ, M., SCHWANKE, C.,H., BODANESE, L., C. Estresse oxidativo como fator de risco cardiometabólico emergente. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 20, n. 3, p. 243-249, 2010.

GURUJEYALASHMI, G., WANG, Y., GIRI, S.,N. Taurine and niacin block lung and fibrosis by down-regulating bleomycin-induced activation of transcription nuclear factor-kB in mice. **J Pharmacol Exp Therap** , 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. The chemistry of free radicals and related "reactive species". In: HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. (eds) **Free radicals in biology and medicine**. 4<sup>th</sup> edn. Oxford press, New York, 2007.

HOLLANDER J; BEJMA J; OOKAWARA T; OHNO H; JI LL. Superoxide dismutase gene expression in skeletal muscle: fiber-specific effect of age. **Mechanisms of ageing and development**, v.116, p. 33-45, 2000.

HUXTABLE, R. J. Physiological actions of taurine. **Physiol. Rev**, v. 72. p. 101- 163, 1992.

KÖNIG, D.; BERG, A. Exercise and oxidative stress: is there a need for additional antioxidants. **Österreichisches I. Für Sportmedizin**, v. 3, 2002.

KOURY, C.J.; DONANGELO, M.C. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev. Nutr., Campinas**, v.16. p. 433-441, 2003.

KOZUMBU, W.J., *et al.* Breakage and binding of DNA by reaction products of hypochlorous acid with aniline, 1-naphthylamine or-naphthol. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 115, p. 107-115, 1992.

LIU, Y.; QUINN, M.,R. Chemokine production by rat alveolar macrophages is inhibited by taurine chloramines. **Immunol Lett.** v. 80, p. 27-32, 2002.

LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, set./dez, 2001.

LOURENCO, R.; CAMILO, M. E. Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. **Nutr. Hosp.** v. 17, p.262-70, 2002.

LOWRY, O.,H., ROSEBOUGH N.,G., FARR, A.L., RANDALL, R.,J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v. 193, p. 265–275, 1951.

LORGERIL M; SALEN P; ACCOMINOTTI M. Dietary and blood antioxidants in patients with chronic heart failure. Insights into potential importance of selenium in heart failure. **European Journal of Heart Failure** v. 3, p661-669, 2001.

MATSUBARA, S.L.; FERREIRA, A.L.A.; Radicais livres, conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. **Ass. Med. Brasil**. v. 43. p. 61-69, 1999.

MATSUO, H., KANEKO, T. The chemistry of reactive oxygen species and related free radicals. In: Radák, Z, editor. **Free Radicals in Exercise and Aging. Champaign: Human Kinetics**. p. 73-115, 2001.

MERO, A.; et al. Effect of strength training session on plasma amino acid concentration following oral ingestion of arginine or taurine in men. **Amino acids**. v. 35. p. 99-106, 2008.

MIYAMOTO, Y.; et al. Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses. **Biol. Chem.** v. 384. p. 567-574, 2003.

OLIVEIRA, M. W. S. **Potencial antioxidante scavenger da taurina em concentrações fisiológicas contra espécies reativas de oxigênio e nitrogênio**. 2008. 92f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PASCOAL, V. *et al.* **Suplementação Funcional Magistral: dos nutrientes aos compostos bioativos**. 1ª edição. São Paulo: VP editor, 2008.

PINHO, R.A.; et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. **Cell. Biol. Int.** v. 30. p. 848-53, 2006.

PINHO, R.A.; ARAÚJO, M. C.; GHISI, G.M.; BENETTI, M. Doença Arterial Coronariana, Exercício Físico e Estresse Oxidativo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 94, p .549-555, 2010.

PRUTZ, W.,A., Hypochlorous acid interactions with thiols, nucleotides, DNA, and other biological substrates. **Arch Biochem Biophys**; v.332, p. 110–120, 1996.

SAHECK, J. M.; PAUL, E. M.; CANNON, J. G.; RONENN, R.; BLUMBERG, J.B. Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. **Free Radical Biology & Medicine**, n.34, p.1575-1588, 2003.

SCHNEIDER, C., D., OLIVEIRA, A., R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte**. v. 10, n. 4, Jul/Ago, 2004.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SILVA, L.A.; PINHO, C.A.; SILVEIRA, P.C. L.; TUON, T.; SOUZA, C.T.; DAL-PIZZOL, F.; PINHO, R.A. Vitamin E supplementation decreases muscular and oxidative damage but not inflammatory response induced by eccentric contraction. **Journal of Physiological Science**, v. 60, p.51–57, 2009.

SILVA, L.A.; SILVEIRA, P,C.; PINHO, C.A.; TUON, T.; DAL-PIZZOL, F.; PINHO, R.A. Nacetylcysteine supplementation and oxidative damage and inflammatory response after eccentric exercise. **International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 18, p. 379-88, 2008.

SILVA, L.A; SILVEIRA, P.C.; RONSANI, M.M., SOUZA, P.S. SCHEFFER, D., VIEIRA, L.C., BENETTI, M.; DE SOUZA, C.T., PINHO, R.A. Taurine supplementation decreases oxidative stress in skeletal muscle after eccentric exercise. **Cell Biochem Funct**. Dec 27, 2010.

SHULLER-LEVIS, G. B.; PARK, E. Taurine: new implications for an old amino acids. **FEMS Microbiol Lett**. v. 226. p. 195-202, 2003.

VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOLA, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Inter J Bioch Cell Biol**, v 39, p. 44–84, 2007.

ZHANG, M., IZUMI, I., KAGAMIMORI, S., *et al.* Role of taurine supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress in healthy young men. **Amino Acids**; v. 26 p. 203–207, 2004