



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E LESÃO
MUSCULAR NO EXERCÍCIO RESISTIDO DE ALTA
INTENSIDADE EM ANIMAIS TRATADOS COM BOWDICHIA
VIRGILIOIDES**

JYMMYS LOPES DOS SANTOS

SÃO CRISTOVÃO

2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E LESÃO
MUSCULAR NO EXERCÍCIO RESISTIDO DE ALTA
INTENSIDADE EM ANIMAIS TRATADOS COM *BOWDICHIA
VIRGILIOIDES***

JYMMYS LOPES DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do grau de Mestre em Educação Física

Orientador: Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal

SÃO CRISTÓVÃO

2014

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Santos, Jymmys Lopes dos

S237a

Avaliação do estresse oxidativo e lesão muscular no exercício resistido de alta intensidade em animais tratados com *Bowdichia virgilioides* / Jymmys Lopes dos Santos ; orientador Anderson Carlos Marçal. – São Cristóvão, 2014.

73 f.

Dissertação (mestrado em Educação Física) – Universidade Federal de Sergipe, 2014.

1. Exercícios físicos – Aspectos da saúde. 2. Stress oxidativo. 3. Antioxidantes. 4. Matéria médica vegetal. I. Marçal, Anderson Carlos, orient. II. Título.

CDU 796:612.766.1

JYMMYS LOPES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E LESÃO
MUSCULAR NO EXERCÍCIO RESISTIDO DE ALTA
INTENSIDADE EM ANIMAIS TRATADOS COM *BOWDICHIA*
*VIRGILIOIDES***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física

Aprovada em ____/____/____

Orientador: Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal

1º Examinador: Professor Dr. Charles dos Santos Estevam

2º Examinador: Professor Dr. Rogério Brandão Wichi

Parecer

Dedico

Aos meus pais, Silvana Teixeira e José Bispo, por simplesmente terem me concebido e, por serem exemplos de vida, dignidade, honradez, amor e carinho que sempre me inspiraram e iluminaram meu caminho (amo de todo meu coração), à minha esposa Paula Daiana que esteve presente nessa minha caminhada (TE AMO DEMAIS) e em especial a Ana Ester, RAZÃO DO MEU VIVER.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua presença maravilhosa em todos os momentos.

Aos meus pais pela vida e dignidade.

À minha esposa Paula Daiana que sempre me apoiou nos momentos mais difíceis que passei durante esse período, e compreendeu a minha ausência (TE AMO, TE AMO).

A Ana Ester por ser minha fonte de inspiração, (PAPAI TE AMA FILHA).

Aos meus irmãos Josivana Lopes, Anderson Lopes, Jonhys Lopes, por me darem força quando precisei.

Charles Lopes (*in memorian*), SAUDADES.

Ao prof. Dr. Anderson Carlos Marçal, pelo ensinamento, compreensão, incentivo e paciência durante toda a orientação, OBRIGADO.

Ao Prof. Charles dos Santos Estevam, por abrir as portas do seu laboratório e desenvolver a minha pesquisa, OBRIGADO.

Aos amigos (Clésio Andrade, Silvan Silva) pela enorme contribuição com a construção desta dissertação, amigos irmãos.

A todos os professores do núcleo de pós-graduação em Educação física da UFS que contribuíram para essa nova etapa de minha vida.

A todos os estudantes que compõem o laboratório de Núcleo de Pesquisa em Sinalização Intracelular (NUPESIN) e ao Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioquímica (LQPNB), pela enorme força e ajuda prestada, direta ou indiretamente, na construção desta obra.

Aos meus atletas (Garcez, Ocidivaldo, Everlan, Barbara, Rômulo, Eduardo, Tamara, Aléssio, Wagner, Eduardo, Wellington, Daniela, Grasielle, Flávio). Obrigado por vocês acreditarem na minha capacidade em conduzi-lo nos treinamentos.

SANTOS, JL. AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E LESÃO MUSCULAR NO EXERCÍCIO RESISTIDO DE ALTA INTENSIDADE EM ANIMAIS TRATADOS COM *BOWDICHIA VIRGILIOIDES*. Sergipe: Universidade Federal de Sergipe. Educação Física. 2014, 73f.

Resumo

Embora considerada uma modalidade de exercício físico segura a execução do exercício resistido (ER) de alta intensidade pode levar a períodos de isquemia-reperfusão e conseqüentemente ao aumento de radicais livres (RL). O uso de agentes antioxidantes naturais pode reduzir os danos oxidativos em resposta ao ER de alta intensidade. O objetivo do presente estudo foi investigar o potencial antioxidante *in vitro* e o efeito protetor do extrato hidroetanólico de *Bowdichia virgilioides* (BV) sobre lesão muscular e parâmetros de estresse oxidativo em ratos submetidos a exercício resistido de alta intensidade. Ratos machos da linhagem Wistar com 200-250 gramas foram divididos em 4 grupos: 1) Grupo sedentário (GC) – tratado com veículo (tween 80, via oral, vo) e eletroestimulação; 2) Grupo treinado (GT) - tratado com veículo (tween 80, a 3% vo) e treinamento resistido; 3) Grupo BV sedentário (GBV) - tratado com extrato EHE de BV (200 mg.kg⁻¹, vo); 4) Grupo BV treinado (GBVT) - tratado com EHE de BV a (200 mg.kg⁻¹, vo). A peroxidação lipídica no plasma e tecido foi diminuído em 55,68% (p <0,0001) e 66,61% (p <0,0012), respectivamente, a partir de TBVG em comparação com TG. Além disso, o stress oxidativo foi diminuído em 62,83% (p <0,0005), e 54,97% (p <0,0197) no plasma e no músculo esquelético, respectivamente, a partir de TBVG comparando a TG. Nossos estudos demonstram que o EHE da BV foi capaz de reduzir alguns marcadores de estresse oxidativo frente ao exercício resistido de alta intensidade, e reduziu o conteúdo de algumas enzimas marcadoras de lesão tecidual.

Palavras Chaves: Estresse Oxidativo; Exercício Físico; Extrato hidroetanólico de *B. Virgilioides*

SANTOS JL. EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS AND NO EXERCISE MUSCLE INJURY RESISTANCE OF HIGH INTENSITY IN ANIMALS TREATED WITH *Bowdichia virgilioides*. Sergipe: Universidade Federal de Sergipe. Educação Física. 2014, 73f.

Abstract

Despite being considered as a safe form of exercise, carrying out high-intensity resistance exercise (RE) can cause periods of ischemia-reperfusion and can consequently lead to an increase in free radicals (FR). The use of natural antioxidants can reduce oxidative damage caused by high-intensity RE. The aim of this study was to investigate the antioxidant potential in vitro and the protective effect exerted by the hydroethanolic extract (HEE) of *Bowdichia virgilioides* (BV) on muscular damage and oxidative stress in rats subjected to high-intensity RE. Methods: Male Wistar rats with 200–250 grams of body weight were divided into four groups: 1) Control group (CG), vehicle-treated (Tween 80, oral administration, P.O.) and electrostimulation; 2) Trained group (TG), vehicle-treated (Tween 80, 3% P.O.) and resistance training; 3) BV untrained group (BVG), treated with HEE of BV (200 mg•kg⁻¹, P.O.); 4) Trained BV group (TBVG), treated with HEE of BV (200 mg•kg⁻¹, P.O.). Lipid peroxidation in plasma and tissue was diminished at 55.68% (p<0.0001), and 66.61% (p<0.0012), respectively, from TBVG comparing to TG. In addition, oxidative stress was diminished at 62.83% (p<0.0005), and 54.97% (p<0.0197) in plasma and skeletal muscle, respectively, from TBVG comparing to TG. HEE of BV was capable of reducing some oxidative stress markers caused by high-intensity RT, and reduced the content of some marker enzymes of tissue damage.

Keywords: Oxidative stress; physical exercise; hydroethanolic extract.

SUMÁRIO

I – Introdução.....	14
II – Objetivos.....	15
2.1 Geral.....	15
2.2 Específicos.....	15
III – Revisão de Literatura.....	16
3.1 Benefícios do Exercício a Saúde.....	16
3.2 Exercício Resistido (ER).....	17
3.3 Radicais livres.....	19
3.4 Antioxidantes.....	21
3.5 Exercício Resistido e Estresse Oxidativo.....	23
3.6 Exercício resistido e danos teciduais.....	24
3.7 Exercício Resistido e suplementação antioxidante.....	26
3.7.1 Exercício resistido e polifenóis.....	27
3.8 Plantas medicinais.....	28
3.8.1 <i>Bowdichia virgilioides</i>	30
3.9 Manuscrito.....	32
IV – Artigo.....	33
Protective Effect of Hydroethanolic Extract of <i>Bowdichia virgilioides</i> on Muscular Damage and Oxidative Stress in Rats Caused by Strenuous Resistance Exercise	33
V – Conclusão.....	61
VI – Referências.....	62
VII– Anexo.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Foto da *Bowdichia virgilioides*

LISTA DE FÓRMULAS, ABREVIATURA E SIGLAS

AA – Atividade antioxidante
AAPH - dihidrocloreto de 2,2'azobis-2-amidopropano
ABTS – Radical 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfonato
AG – Ácido gálico
AMP – Monofosfato de adenosina
ALT- Alanina Aminotransferase
AST - Aspartato aminotransferase
ATP – Trifosfato de adenosina
BHT – Hidroxitolueno butilado
Ca²⁺ - íon cálcio
CAT – enzima catalase
CK creatina-quinase
CE₅₀ – Concentração eficiente em 50%
DNA – Adenina dinucleotídeo
DNPH – Ácido dinitrofenilhidrazina
DPPH - Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazina
DTNB – Ácido 2-nitrobenzóico 5,5-ditio-bis
EA - Exercício aeróbio
EAG – equivalente de ácido gálico
EO – Estresse Oxidativo
EROs – espécies reativas de oxigênio
FActE – Fração acetate de etila
EHE-Extrato Hidroetanólico
FADH - Flavina adenina dinucleotídeo (forma reduzida)
FCI – Fração clorofórmica
FeCl₃ – Cloreto férrico
FeSO₄ – Sulfato ferroso
FHMoh – Fração hidrometanólica
FT – Fenóis totais
GPx – Glutathione peroxidase
Gr – glutathione redutase

GT- grupo treinado
 GC -grupo controle
 GBV- grupo Bowdichia Virgilioides
 GBVT- grupo Bowdichia Virgilioides treinado
 GSH – Glutathione reduzida
 GSSG – Glutathione oxidada
 H^+ - íon hidrogênio
 H_2O_2 – Peróxido de hidrogênio
 H_2SO_4 – Ácido sulfúrico
 HCl – Ácido clorídrico
 HOCl – Ácido hipocloroso
 IAA – Índice de atividade antioxidante
 KCl – Cloreto de potássio
 $L^•$ – Ácido graxo livre
 LDH - Lactato desidrogenase
 $LOO^•$ – Radical peroxil
 MDA - Malonaldeído
 MeOH – Metanol
 NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (Forma reduzida)
 NaOH – Hidróxido de sódio
 $NO^•$ – Radical oxido nítrico
 O_2 – Oxigênio molecular
 1O_2 – Oxigênio singlet
 $O_2^•$ – Radical superóxido
 $OH^•$ – Radical hidroxila
 $ONOO^•$ – Radical peróxido nítrico
 $OOH^•$ – Radical hidroperóxido
 PMSF – Fluoreto de Fenilmetilsulfonila
 RL – Radial livre
 $RO^•$ – Radial alcóxila
 $ROO^•$ – Radical peroxila
 SDS – Sulfato dodecil de sódio
 SH – Grupos sulfidrilas

SOD – Enzima superóxido dismutase

TBA – Ácido tiobarbitúrico

TBARs – Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA – Ácido tricloracético

VO_{2máx} – Volume máximo de oxigênio

I – INTRODUÇÃO

É consenso na literatura que a prática regular de exercício físico é uma importante ferramenta na manutenção da saúde e prevenção de diversas doenças como o diabetes, hipertensão e obesidade. Diante deste quadro, nas últimas décadas tornou-se crescente o número de indivíduos envolvidos em programas de exercício físico (Mendes et al., 2006).

Neste contexto o exercício resistido quando praticado em alta intensidade, o músculo ativo sofre momentâneos estados de isquemia e reperfusão, mecanismo esse responsável pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) e dano oxidativo muscular (FREISLEBEN, 2000; MOSCARDINI et al., 2012). Além disso, foi evidenciado, também, que a deficiência de alguns nutrientes associado ao esforço físico de alta intensidade contribui para a depleção do sistema de defesa antioxidante e redução da capacidade do organismo em remover EROs. Estes eventos cursam com o aumento da produção de radicais livres (RL), tendo como consequência, danos celulares e teciduais (GROUSSARD et al., 2003; SOUZA, FERNANDES, CYRINO, 2006).

Para atenuar estes efeitos, novas estratégias têm sido desenvolvidas, uma delas é a ingestão de constituintes com fitoquímicos específicos presentes em alimentos e/ou chás provenientes de vegetais. Algumas destas substâncias apresentam a capacidade de atenuar o estresse oxidativo decorrente do esforço físico, sendo os constituintes polifenólicos responsáveis pelos efeitos antioxidantes. Neste sentido, estudos têm demonstrado que o consumo de chás que apresentam polifenóis demonstrou efeito protetor em diversos órgãos e tecidos de ratos contra o estresse oxidativo induzido pela prática do exercício extenuante (LIMA, 2011). Não obstante, foi observado em seres humanos, que a ingestão aguda ou regular de alimentos ricos em polifenóis pode reduzir danos oxidativos em resposta ao esforço. Desta forma, o consumo de produtos naturais, parece ser uma alternativa importante na prevenção de possíveis danos celulares decorrente do aumento de EROs e estresse oxidativo (EO) em resposta ao esforço físico de alta intensidade. (LIMA, 2011; PANZA, 2008).

Dentre os diversos gêneros de plantas que apresentam alta concentração destes compostos, estudo ainda não publicado e realizado no Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioquímica da Universidade Federal de Sergipe (LQPNB-UFS), demonstrou que a *Bowdichia virgilioides* (*B. virgilioides*) possui em sua composição grande quantidade de compostos fenólicos, bem como, um índice de moderado a alto em atividade antioxidante, sendo capaz de prevenir a lipoperoxidação *in vitro*. Diante do exposto, o presente estudo avaliou o efeito da ingestão de produto contendo componentes fenólicos da *B. virgilioides* na atenuação e/ou redução do estresse oxidativo geradas após a prática de exercício resistido de alta intensidade.

II – OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito protetor do extrato hidroetanólico de *B. virgilioides* sobre lesão muscular e parâmetros de estresse oxidativo induzido por programa de exercício físico resistido de alta intensidade em ratos.

2.2 Específicos

- Avaliar a capacidade antioxidante do extrato hidroetanólico da *B. virgilioides* no modelo radicalar de DPPH; determinar o comportamento cinético do extrato hidroetanólico da *B. virgilioides* em reduzir o radical DPPH;
- Verificar o perfil fitoquímico do extrato hidroetanólico da *B. virgilioides* em HPLC;
- Quantificar o conteúdo de fenóis totais do extrato hidroetanólico da *B. Virgilioides*;
- Avaliar a capacidade do extrato em inibir a peroxidação lipídica determinada por meio do monitoramento da produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos modelos (AAPH) [dicloreto de 2,2-azobis (2-amidinopropano) 0,17 M] e solução de FeSO₄;
- Determinar a capacidade do extrato hidroetanólico da *B. virgilioides* em prevenir o estresse oxidativo induzido por programa de treinamento resistido

de alta intensidade pelo método da quantificação dos subprodutos da peróxidação lipídica e oxidação de proteínas plasmática e tecidual;

- Determinar a capacidade do extrato hidroetanólico da *B. virgilioides* em prevenir lesão muscular através do método de quantificação dos marcadores creatina Kinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) plasmático.

III – REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Benefícios do Exercício à Saúde

O exercício físico (EF) é uma atividade realizada com repetições sistemáticas de movimentos orientados, com consequente aumento no consumo de oxigênio decorrente do recrutamento das fibras musculares durante a execução do movimento. Além disso, pode também ser definido como qualquer atividade muscular capaz de induzir uma série de respostas fisiológicas nos sistemas corporais com propósito à manutenção e/ou otimização do condicionamento físico (BORGES, ARAÚJO, CUNHA, 2010; CASPERSEN, POWELL, CHRISTENSON, 1985; FORJAZ, et al., 2003).

O exercício físico é classificado conforme sua exigência metabólica. Aqueles com maior requerimento de oxigênio são classificados como exercícios aeróbicos cíclicos. De uma forma geral é proposto em programas para manutenção do peso corporal, reabilitação cardiorrespiratória entre outros objetivos (FONTOURA; ASSUMPÇÃO; MORAIS, 2002). Por outro lado, quando o exercício é realizado com baixo requerimento de oxigênio, estes são classificados como anaeróbicos acíclicos, podendo variar em média de 30 segundos a 5 minutos o intervalo entre os exercícios, e de 1 a 20 repetições por série de exercício, dos quais podemos chamar de exercício resistido (ER) (ou de força) e os de velocidade (GONÇALVES; VILARTA, 2004). Os ER são bastante empregados nas academias de ginástica para ganho de massa magra (hipertrofia muscular), aumento da densidade mineral óssea, ganho de força e resistência muscular localizada (CÂMARA et al., 2007, PITANGA, 2004, ADAM et al., 2013).

Não obstante, a prática regular de exercício físico alicerçado em um programa de treinamento adequado, respeitando a individualidade biológica de cada praticante com intensidade, duração, frequência e progressão adequadas, resultará em benefícios a componentes relacionados à saúde funcional do mesmo, prevenindo e/ou atenuando os efeitos decorrentes de doenças crônicas degenerativas como: hipertensão, diabetes, obesidade, artrose, osteoporose, dislipidemia, síndrome metabólica entre outras (LAKKA et al., 2003; CIOLAC ; GUIMARÃES, 2004).

Estudos têm demonstrando que a prática regular de exercício é capaz de reduzir gordura corporal localizada, normalização da glicemia, como também reabilitar indivíduos que foram sujeitos a algum tipo de trauma e/ou acometidos por doenças crônicas não transmissíveis (CÂMARA et al., 2007; GRAVES, FRANKLIN, 2007). Além disso, à promoção da saúde está diretamente relacionada ao volume e intensidade da modalidade de atividade física, assim, desta forma são desenvolvidos em sessões contínuas e/ou intervaladas desde que as mesmas ultrapassem pelos menos trinta minutos por dia em pelo menos três sessões semanais em intensidade moderada (ZAMAI E BANKOFF, 2010).

3.2 Exercício Resistido (ER)

O exercício resistido (ER) caracteriza-se por atividade nas quais ocorrem contrações voluntárias da musculatura esquelética de um determinado segmento corporal contra alguma resistência externa, ou seja, contra uma força que se opõe ao movimento, sendo que essa oposição pode ser oferecida pela própria massa corporal, por pesos livres ou por equipamentos, como aparelhos de musculação, elásticos ou resistência manual (FORJAZ et al., 2003; BORGES et al., 2010). O ER é um método eficaz de treinamento para indivíduos com os mais diversos objetivos e níveis de aptidão física (AZEVEDO et al., 2007), por propiciar benefícios como aumento da força e de resistência muscular (AZEVEDO et al., 2007; MUNN et al, 2005).

Atualmente, o ER tem sido aplicado para uma grande variedade de processos patológicos, por seus efeitos benéficos associados aos ajustes benéficos na função cardiovascular, metabolismo, diminuição dos fatores de risco coronários e bem-estar psicossocial. Além disso, essa modalidade de exercício estimula a hipertrofia e a coordenação motora, resultando na melhora da capacidade funcional durante as atividades desempenhadas diariamente (GRAVES, FRANKLIN, 2007; KELLEY, KELLEY 2000; JORGE et al., 2009). Uma vez que essas melhorias implicam alterações morfofuncionais em diversos tipos de fibras, principalmente, as do tipo IIa e IIb (FAIAL, et al., 2007).

As fibras musculares do tipo IIa, também chamadas de intermediárias ou mistas, são constituída em sua grande maioria de fibras brancas cujo metabolismo é predominantemente anaeróbico, além disso, apresenta uma capacidade oxidativa superior quando comparada aos outros tipos de fibras musculares, o que as torna ligeiramente mais resistente à fadiga (KIERSENBAUM, 2004). Quanto as fibras do tipo IIb, estas são predominantemente do tipo glicolíticas ou seja, tem seu metabolismo predominantemente anaeróbico (MINAMOTO 2005). Por conta destas características, as fibras musculares são de contrações rápidas com acúmulo de ácido láctico ao fim de sequências de contrações duradouras (KIM et al., 2014). Outra característica importante para esse tipo de fibra é o elevado número de motoneurônios presentes, conferindo assim, em alto número de recrutamento e velocidade de condução. Quanto ao aspecto estrutural, as fibras musculares do tipo IIb possuem fibra muscular de diâmetro grande, com a densidade capilar, mitocondrial e o conteúdo da mioglobina baixos. No tocante ao armazenamento energético, caracteriza-se por alto predomínio de fosfocreatina e glicogênio. Porém, devido à atividade ATPásica da miosina e de enzimas glicolíticas, esta fibra muscular apresenta baixa eficiência energética e resistência à fadiga (FOSS; KETEVIAN, 1998).

Entendendo as características dos tipos de fibras recrutadas prioritariamente durante a prática do exercício resistido, sugere-se que exista uma elevação no conteúdo de ácidos (ácido láctico e íons H^+) formados dentro da fibra muscular, os quais são moléculas envolvidas na gênese de EROs e outros radicais livres.

O ER quando praticado em alta intensidade eleva-se o consumo de oxigênio ou por várias outras vias, geram um aumento na produção de (EROs) e radicais livres (NEUBAUER et al., 2010; JI et al., 2002; BRAND-WILLIAMS et al, 1996), e que a constante exposição a esta condição o (ER), como consequência, o estresse oxidativo estará elevado (SHNEIDER et al., 2009; VICENT, MORGAN e VICENT, 2004), podendo ocasionar agravos na membrana lipídica celular, proteínas e DNA, fadiga e estresse muscular, diminuição da performance e causando overtraining (FINAUD, LAC, FILAIRE, 2006; SOUZA, OLIVEIRA, PEREIRA, 2005).

3.3 Radicais livres

Os radicais livres (RLs) são espécies químicas originadas do processo de oxidação que ocorre de maneira natural ou por alguma disfunção biológica através de reações bioquímicas que envolvam a presença de oxigênio, caracterizados pela presença de um ou mais elétrons desemparelhados em sua última camada de valência (AYRES, CHAVES, 2009; BARREIROS, DAVID, 2006). São capazes de existir na forma livre (LIMA, BEZERRA, 2012, SIGNORINI & SIGNORINI, 1995), possuem tempo de vida muito curto na ordem de milésimos de segundo, o qual está associado à sua reatividade (BACURAU, ROSA, 2004).

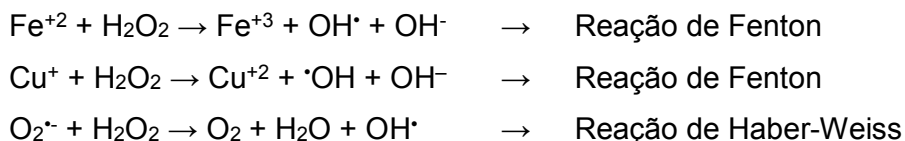
Conforme Koury & Donangelo (2003) os RLs, elementos químicos instáveis, tendem a ligar seus elétrons desemparelhados a outros elementos e estruturas celulares próximas, podendo, com isso, ceder um elétron (radical redutor) ou captar um elétron (radical oxidante). Como consequência dessa ação redox, a homeostase celular pode ser alterada e, com isso, o funcionamento celular e tecidual poderá apresentar um desequilíbrio em seu funcionamento (SEN, 2001; VANCINI *et al.*, 2005).

Entretanto, o termo RL é muito amplo para classificar todas as espécies de radicais livres produzidas no organismo, haja vista que, há espécies que não apresentam elétrons desemparelhados, porém, mesmo assim, apresenta potencial pró-oxidante das estruturas biológicas, os quais são estáveis (FERREIRA, MATSUBARA, 1997; LIMA, BEZERRA, 2012).

No caso de possuírem elétrons desemparelhados, os radicais livres possuem duas classificações a depender do tipo de átomo que apresenta a camada de valência em desequilíbrio. Caso seja um átomo de oxigênio, o radical livre é denominado de espécie reativa de oxigênio (ERO) e, no caso de átomos de nitrogênio, espécie reativa de nitrogênio (ERN) (BARREIROS, DAVID, 2006; CARPES, 2008). Os principais tipos de EROs estão difundidos em duas classificações: as espécies formadas por radicais específicos, como os radicais hidroxila ($\text{HO}\cdot$), alcoxila ($\text{RO}\cdot$), peroxila ($\text{ROO}\cdot$) e superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) e, espécies não radicalares, que podem induzir reações de radicais livres no organismo, como o ácido hipocloroso (HOCl), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e o ozônio (O_3) (BARREIROS, DAVID, 2006; HALLIWELL, GUITTERIDGE, 2000).

Apesar do oxigênio (O_2), por exemplo, ser imprescindível à vida, ele pode apresentar uma elevada toxicidade para o organismo (YU, CHUNG, 2006). Por exemplo, a cadeia transportadora de elétrons é responsável por mais de 90% do consumo de O_2 total do organismo. Nela o oxigênio é oceptor final de elétrons do Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídio (NADH) e do flavina-adenina dinucleotídeo (FADH_2) que são derivados da oxidação de fontes energéticas (carboidratos e lipídios, por exemplo). Nesta via, o O_2 é fundamental para geração de energia (ATP). Porém, neste processo de redução do oxigênio e geração de energia, oxidases dão origem a EROs, tais como o $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 e/ou $\text{OH}\cdot$ (RODRIGUES, 2005).

Para Lima & Bezerra (2012), Ferreira & Matsubara (1997), Olszewer (2001), Lancha Jr., (2004), o radical $\text{OH}\cdot$ é o radical livre mais reativo que pode existir no organismo. Porém, se tratando de importância biológica, tanto ele quanto o $\text{O}_2^{\cdot-}$ são relevantes, uma vez que os mesmos podem ser formados tanto no metabolismo em condições em que há a homeostase fisiológica, quanto no processo exacerbado de redução do O_2 molecular no interior das mitocôndrias. A produção dos radicais acima citados também pode ser obtida durante a metabolização de bases purínicas pelo ciclo de Lowenstein, e ainda, através da redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pelo ânion $\text{O}_2^{\cdot-}$, pelo Fe^{2+} e Cu^+ através de reações de Fenton e Haber-Weiss, como mostrado abaixo (LOWENSTEIN, 1990; BENZI, 1993; YU, 1994):



O $\text{O}_2^\bullet$ é formado no organismo através da redução monovalente do O_2 molecular, o qual adquire um único elétron, o principal local de formação desse radical no organismo é a cadeia transportadora de elétrons, cuja produção pode ser aumentada à medida que se aumenta a concentração do O_2 (RODRIGUES, 2005). Não obstante, o mesmo autor referencia ainda que, mesmo sendo menos reativo que outros radicais, há muitos alvos sensíveis a ele que a outras espécies radiculares. Além disso, esta espécie radicalar é uma das principais fontes geradores de hidroxila radicalar ($\text{OH}^\bullet$), a qual é responsável pela maioria dos danos oxidativos induzidos por RL no organismo, podendo interagir com todos os tipos de biomoléculas, originando reações em cadeia e induzindo, assim, alterações redox no sistema biológico como peroxidação lipídica e oxidação de proteínas (CLARKSON, THOMPSON, 2000; EVANS, 2000; POLLACK, LEEUWNBURGH, 1999).

Neste sentido, à medida que o organismo necessita de maior aporte energético e/ou maior concentração de O_2 , como no exercício físico, por exemplo, há inevitavelmente uma maior produção de EROs, uma vez que cerca de 2 a 5% do O_2 consumido pode resultar na geração dessas espécies reativas (RODRIGUES, 2005).

Os radicais livres apresentam afinidade acentuada por uma forma de estabilização do seu elétron desemparelhado, buscando outro elétron, para formar pares de átomos estáveis. Existem vários fatores ambientais que podem contribuir para a produção excessiva desses radicais, tais como a superexposição a radiação solar, temperaturas altas, poluição, metais pesados, alteração de pH, pesticidas, consumo de bebidas alcoólicas em excesso e tabaco. Foram evidenciadas que além do desequilíbrio bioquímico intracelular já citados anteriormente, estes fatores podem contribuir para o envelhecimento precoce do organismo, bem como também

para o desenvolvimento de determinados estados patológicos (CARPES, 2008; SCHEIBMEIR et al., 2005).

3.4 Antioxidantes

Antioxidantes são agentes responsáveis pela estabilização de radicais livres ocasionando uma inibição e/ou redução das lesões ocasionadas nos organismos pela ação radicalar. Esses agentes desenvolvem uma atividade antioxidante mesmo estando em baixas concentrações, podendo ser classificados como endógenos enzimáticos, como as enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) e a glutathione reduzida (GSH) e endógenos não-enzimáticos, como bilirrubina, ceruloplasmina, hormônios sexuais, melatonina, coenzima Q, ácido úrico, entre outros, e exógenos, adquiridos a partir da dieta ou suplementação alimentar como ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno (precursor de vitamina A) e grupos fenólicos de plantas como flavonóides (BIANCHI, ANTUNES, 1999; HALLIWELL, GUITTERIDGE, 2000; BARREIROS, DAVID 2006; CERQUEIRA et al., 2007; VALKO et al., 2007).

Os antioxidantes podem ser definidos como uma família heterogênea de moléculas naturais, que, presentes em baixas concentrações, comparativamente às biomoléculas que supostamente protegeriam, podem prevenir ou reduzir a extensão do dano oxidativo, e atuam também no reparo das lesões ocasionadas pelos radicais livres, procedimento este relacionado com a remoção dos danos da molécula de Ácido desoxirribonucleico (DNA) e com a estabilização das membranas celulares lesadas. Em alguns processos podendo acontecer uma adaptação orgânica em resposta à geração desses radicais resultando em um aumento da síntese de enzimas antioxidantes (BIANCHI e ANTUNES, 1999, COSTA et al.2013).

O sistema antioxidante age sacrificando sua própria integridade molecular para evitar desordem nas moléculas. Pois estão constituídos em um grupo de substâncias que deve estar presente em concentrações superiores em relação ao substrato oxidável, reduzindo ou prevenindo significativamente a atividade deste, assim, resultando em inibição e redução das lesões às células (DOLINSKY, 2009).

3.5 Exercício Resistido e Estresse Oxidativo

As unidades celulares são capazes de se defender contra as ações nocivas dos radicais livres a partir da ativação de mecanismos de defesa antioxidantes, que em organismos saudáveis, encontra-se em equilíbrio com essas substâncias radicalares. No entanto, a desestabilidade metabólica entre o aumento da concentração de espécies reativas e decréscimo das moléculas antioxidantes caracteriza uma condição orgânica e metabólica denominada estresse oxidativo, a qual está associada a inúmeras patologias (ARCEGO et al., 2014).

Desta forma, estresse oxidativo pode ser desencadeado por inúmeros fatores, desde mutações nas enzimas de defesa antioxidante, redução da ingestão de vitaminas e outros constituintes da dieta, aumento da produção de EROs devido a fatores ambientais, consumo excessivo de gordura e álcool, estresse físico e mental ou ao desenvolvimento de inflamações e infecções (CARPES, 2008; MORAIS et al., 2009).

Conforme Ferreira & Matsubara (1997), Leite & Sarni (2003) e Schneider & Oliveira (2004), já são mais de 50 patologias associadas às ações deletérias das EROs tais como enfisema pulmonar, displasia bronco-pulmonar, pneumoconiose, asma, síndrome de angústia respiratória do adulto (SARA), artrite reumatóide, lesão de retina, mutações, mal de Alzheimer e Parkinson, envelhecimento precoce, aterosclerose e câncer, sendo as duas últimas, as principais causas de óbito da sociedade moderna.

Além dos fatores pró-oxidantes citados acima, estudos demonstraram aumento significativo do estresse oxidativo associado à prática de exercício físico com intensidades máximas e supra-máximas (GROUSSARD et al 2003; FINAUD, LAC, FILAIRE., 2006; CRUZAT et al., 2007). Sob esta condição específica de treinamento, foram evidenciados incremento nas espécies reativas de oxigênio (EROs) na cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, associado ao aumento da atividade da enzima xantina-oxidase, prolongando assim, o processo de isquemia e reperfusão tecidual. No entanto, o aumento de ácido láctico e catecolaminas após

exercícios resistidos também contribuem significativamente para a produção de EROs (JI, 2002; BLOOMER, GOLDFARB, 2004; CRUZAT. et al., 2007).

Durante o processo de isquemia e reperfusão muscular, condição característica no exercício resistido de alta intensidade associado ao aumento de EROS e RL, é evidenciado estresse oxidativo, situação onde a síntese de ATP é inferior à sua degradação. Estes fatores contribuem para o aumento no conteúdo adenosina monofosfato (AMP), a qual por sua vez ativa alostéricamente enzimas responsáveis por sua oxidação (BLOOMER, GOLDFARB, 2004). Isso ocorre da seguinte forma: quando a oferta de oxigênio está reduzida no processo isquêmico, a AMP por deaminação (AMP deaminase) é convertida em IMP (inosina monofosfato) até ser transformada em xantina e, posteriormente, a ácido úrico pela enzima xantina-oxidase junto com a redução do O_2 , produzindo assim o radical superóxido ($\cdot O_2^-$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (MCARDLE, 2001). No momento em que ocorre a reperfusão tecidual, ou seja, durante o relaxamento do músculo em atividade, o processo de redução do O_2 torna-se elevado, formando ainda mais radical hidroxila ($\cdot OH^-$) no tecido recrutado (FINAUD, LAC, FILAIRE. 2006; PETRY et al., 2010).

3.6 Exercício resistido e danos teciduais

Nos dias atuais é consenso que o exercício resistido, quando praticado de forma regular, é determinante para a aquisição de força, hipertrofia, e associado a um estilo de vida saudável, exercendo benefícios como a prevenção do risco de morbidades, contribuindo assim, para a diminuição da mortalidade (LEE, BOOTH, 2005; FERREIRA, DUARTE, ALBERTO, 2007). No entanto, em oposição aos seus potenciais efeitos benéficos, o exercício resistido de alta intensidade, pode induzir alterações orgânicas acentuadas, principalmente quando os diversos tecidos, órgãos ou sistemas não estão adaptados suficientemente para suportar os ajustes homeostáticos impostos pelos diferentes tipos de sobrecarga (OGONOVSKY et al., 2005; FERREIRA, DUARTE, ALBERTO, 2007). Durante a execução de movimento simples, por exemplo, é verificado aumento do estresse mecânico às células dos sistemas ósteo-articular e cardiovascular, além disso, aumento da temperatura

corporal e da taxa metabólica, ajustes tanto nas estruturas musculares quanto sistêmicas são evidenciadas. No entanto, quando este movimento é realizado contra resistência e sob alta intensidade podem gerar e/ou exacerbar lesões decorrentes desta atividade (POWER, LEEUWENBURH, 1999; POWERS, HOWLEY, 2001; MORAES et al., 2012).

O estresse tecidual decorrente do exercício induz o recrutamento e migração de leucócitos e células do sistema imune para o local danificado, o qual é proporcional à intensidade do exercício (HAWKE, 2005; SAXTON et al., 2003). Esse mecanismo obedece a uma via de sinalização a partir de mediadores inflamatórios e células do sistema complemento e ativação de eventos desencadeiam a coagulação e a atividade fibrinolítica (TODO-BOM, PINTO, 2007). As possíveis lesões estão relacionadas, tanto ao componente contrátil, quanto ao não contrátil, como a matriz extracelular, sarcolema e lâmina basal (FOSCHINI, PRESTES, CHARRO, 2007; VIERCK., 2000; STUPKA., 2000; DIAS et al., 2008).

Estudos realizados por Stupka (2000) e Butterfield; Best; Merrick (2006) mostraram que quando há lesão no tecido, os miócitos e outras células liberam citocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6. Desta forma, os neutrófilos são mobilizados para reparar o dano muscular induzido pelo exercício e fagocitam a fibra muscular lesionada por meio da ativação do sistema enzimático nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato-oxidase (NADPH) e liberação de enzimas proteolíticas a partir dos seus grânulos intracelulares que, também contribuem para a liberação de EROs. A síntese das citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , estimulam a síntese de IL-6 que, por sua vez, resultando na produção hepática de proteínas de fase aguda, como a proteína C reativa (PCR) e inibidores de proteases. A IL-6 é conhecida por desempenhar um papel modulador da extensão da resposta inflamatória por aumentar a síntese de citocinas anti-inflamatórias e também por mediar à interação entre células satélites e macrófagos pela liberação de fatores moleculares envolvidos com o aumento do processo de reconstrução tecidual (CRUZAT et al., 2007; PRESTES et al., 2007; HAWKE, 2005).

3.7 Exercício Resistido e suplementação antioxidante

Como já estabelecido, o exercício resistido de alta intensidade aumenta a produção de radicais livres, assim gerando estresse oxidativo, com isso muitos são os estudos que preconizam o uso de suplementos alimentares ricos em antioxidantes por atletas e indivíduos ativos (URSO e CLARKSON, 2003; MORILLAS-RUIZ et al., 2005; SENTURK et al., 2005; BLOOMER, GOLDFARB, MCKENZIE, 2006). Atualmente, os principais suplementos usados para atenuação dos efeitos e/ou produção dos radicais livres são produtos farmacêuticos que contém em sua formulação as vitaminas A (Retinol), E (α -Tocoferol), C (Ácido ascórbico), betacaroteno, os quais também estão presentes em muitos alimentos como, por exemplo, a uva, a groselha, o chá verde e mirtilo (MACHEFER et al., 2003; HOFFMAN et al., 2010; ARENT et al., 2010).

Embora o exercício resistido de alta intensidade promova aumento na produção de estresse oxidativo, em contra partida, algumas vitaminas como as vitaminas “E” e “C”, conjuntamente atuam como um efeito protetor por reduzir e/ou prevenir danos causados por radicais livres. A vitamina E por ser lipossolúvel atua na prevenção de algumas reações na cascata de peroxidação lipídica das membranas celulares, interferindo na propagação dos radicais lipídicos. A vitamina C, um antioxidante solúvel em água, por sua vez, é encontrado no citoplasma onde o fluído extracelular interage diretamente com os radicais livres assim havendo um impedimento no dano oxidativo por estes agentes. Desta forma, devido as diferentes características e distribuição intracelular das vitaminas E e C, estudos tem demonstrado que o uso combinado apresenta efeito antioxidante mais eficaz do que quando utilizadas isoladamente (RINNE et al. 2000; MICHAEL et al., 2010). Isso porque com a geração dos oxidantes provindos da membrana celular oxidam a vitamina E, neutralizando e formando o radical tocoferil, o qual pode ser regenerado pela vitamina C (HALLIWELL, 1996; MICHAEL et al., 2010).

A vitamina A, uma vitamina lipossolúvel relacionada ao retinol (vitamina A pré-formada) e que compartilham atividades biológicas. Entre as suas funções apresenta a capacidade de inibir a oxidação de compostos pelos peróxidos. O

mecanismo pelo qual estas substâncias protegem os sistemas biológicos contra os danos mediados pelos radicais livres (SANTOS, CRUZ., 2001).

Betacaroteno antioxidante lipossolúvel que está presente nas membranas celulares. Apresenta de forma eficaz como neutralizador de oxigênio singlete em condições de hipóxia tecidual. Isto se deve, em parte, a sua ação direta com o ânion superóxido e com os radicais peróxila devido à sua longa cadeia que contém duplas ligações conjugadas (YU, 1994; PANZA, 2008).

Senturk et al. (2005) constatou efeito antioxidante após dois meses de suplementação com vitaminas (A-50mg/dia, C-1000mg/dia e E-800mg/dia) em 18 indivíduos (nove sedentários e nove treinados) onde foi verificado o potencial antioxidante que as vitaminas tem sobre a prevenção da resposta inflamatória após exercício intenso. Andersson et al. (2010), examinaram a influência da suplementação antioxidante frente ao estresse oxidativo induzido por um programa de exercício desenvolvido em jogadoras de futebol, notaram que uma suplementação com antioxidante quando ingeridas após uma partida de futebol (contendo ácido ascórbico e outros) atuam sinergicamente com os antioxidantes endógenos, isto se deve, em parte, ao equilíbrio entre o aumento de glutathione oxidada (GSSG) induzida pelo exercício associado a uma redução da peroxidação lipídica.

3.7.1 Exercício resistido e polifenóis

Como exposto em tópico anterior, os benefícios do exercício resistido na manutenção da saúde são evidentes. No entanto, deficiências nutricionais e alterações na carga de treinamento implicam em respostas negativas decorrentes da prática do exercício físico. Para minimizar este efeito e que possa promover respostas positivas do exercício sobre o organismo, estudos com substâncias antioxidantes estão sendo empregadas no campo da atividade física e nutrição esportiva. Uma classe de antioxidante que vem sendo bastante estudada são de origem naturais como os polifenóis (LIMA, 2011). Isso porque são relatadas na literatura científica como atenuadores do estresse oxidativo e lesões induzidas pelo exercício físico (LUKASKI, 2004).

Os compostos polifenólicos são substâncias de origem vegetal extremamente ampla e complexa, são sintetizados através do metabolismo secundário das plantas e responsáveis por diversas propriedades fisiológicas e de defesa dos vegetais (GOTTI et al., 2006). Atualmente vêm sendo amplamente estudadas em razão dos benefícios que pode propiciar à saúde humana, dentre as diferentes propriedades que possui, é a sua capacidade antioxidante em prevenir danos oxidativos às estruturas celulares, teciduais e ou próprio DNA são as que apresentam maior interesse. Paralelamente, também é comprovado cientificamente que estes compostos possuem outros efeitos, como atividade anti-inflamatória, anticarcinogênica, antiaterogênica, antitrombótica, antimicrobiana, analgésica e vasodilatadora (WOLLGAST, ANKLAN, 2000; EFRAIM, ALVES, JARDIM., 2011;). Não obstante, estudos recentes observaram que a ingestão aguda ou regular de alimentos que sejam ricos em polifenóis pode reduzir os danos oxidativos em resposta ao esforço físico causado pelo exercício físico resistido (McANULTY et al., 2004; MORILLAS-RUIZ et al., 2005).

Panza (2008) demonstrou que o consumo de chá verde, vegetal rico em polifenóis, durante 7 dias, consecutivamente, foi capaz de reduzir danos oxidativos teciduais causados pelo estresse induzido pelo exercício resistido de alta intensidade.

3.8 Plantas Medicinais

O interesse em plantas medicinais para a manutenção da saúde cresceu desde as últimas décadas, o que estimulou o advento de estudos científicos para comprovar sua eficácia e segurança. Diversos constituintes químicos como alcalóides, taninos e flavonóides quando isolados de distintos tipos de plantas medicinais e/ou frutos são possíveis candidatos para serem explorados como agentes antioxidantes (CALIXTO, 2000; MACIEL et al., 2002; SILVA et al., 2010-a; ALBUQUERQUE et al., 2012; SILVA et al., 2012).

A busca pela atenuação e/ou cura de doenças por meio do uso de plantas medicinais provavelmente foi o primeiro recurso natural utilizado pelo ser humano (VEIGA JR. et al., 2005; CASTRO 2006; VIEGAS, BOLZANI, 2006). Desta forma, desde a pré-história o homem utiliza as plantas pela necessidade de sobrevivência, além da utilização na alimentação, vestimenta e como artefatos para abrigos. Outras propriedades são atribuídas para diversas plantas como a utilização para caça, guerra entre tribos como armas, rituais espirituais e até para eliminar indivíduos indesejados de determinados grupos sociais, estas necessidades levou o homem a se deparar com a possibilidade de aplicações terapêuticas de determinadas espécies (BARREIROS, DAVID, 2006; CASTRO, 2006).

Geralmente o uso de plantas medicinais pela população é basicamente empírico, sendo a Raíz, caule, casca, folhas, flores, frutos e sementes de diversas espécies de plantas consumidas na forma de chá, tintura, óleos, pó, xarope, cataplasma entre outros sem orientação profissional quanto à posologia e administração (MARÇAL, et al., 2003). Alguns preparos vegetais sem respaldo científico têm originado intoxicações devido aos efeitos já conhecidos ou ao uso incorreto, ou ainda, por dificuldade na identificação das espécies, o que justifica mais uma vez a importância do estudo com espécies vegetais de forma a validar seu uso terapêutico (FERREIRA, 1993; VEIGA JR. et al., 2005; CASTRO, 2006).

Existem aproximadamente 350.000 a 550.000 espécies de plantas no planeta e desse número, o Brasil possui 55.000 espécies vegetais catalogadas distribuídas em diversos ecossistemas como Floresta Tropical Amazônica, Mata Atlântica, Pantanal, regiões de Mangue, Cerrado e Caatinga, desta forma, o Território Brasileiro é o detentor da maior biodiversidade vegetal do mundo (FOGLIO et al., 2006,). Porém, apesar da biodiversidade atribuída à flora brasileira, são necessárias estratégias importantes para a conservação e recuperação das espécies de áreas degradadas, o que justifica a utilização de plantas, principalmente as consideradas como plantas medicinais, de forma sustentável (BARREIROS, DAVID, 2006; FOGLIO et al., 2006; BARROS et al., 2010).

A prática do uso de plantas medicinais no Brasil resulta da forte influência cultural dos indígenas, das tradições africanas e européias. Comumente ocorre a prescrição de plantas medicinais sem se conhecer seus constituintes químicos. Dessa forma as observações populares sobre a utilização e a eficácia das referidas plantas contribuem relevantemente para a divulgação das virtudes dessa alternativa terapêutica (BARREIROS, DAVID, 2006; CASTRO, 2006; GOMES et al., 2008).

Além disso, aumento do consumo de plantas medicinais é evidente na atualidade, e isto se deve a vários fatores como a conscientização dos consumidores com relação aos possíveis danos causados pelos medicamentos sintéticos, o exacerbado apelo da mídia em prol do consumo de produtos naturais (CASTRO, 2006). No entanto, as pesquisas brasileiras com plantas medicinais e fabricação e utilização de fitoterápicos, ainda são insuficientes. As informações científicas sobre essas plantas cresceram apenas 8% nas duas últimas décadas, sendo que o volume de recursos e tecnologia empregados nesses estudos explica a centralização da pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos nos países desenvolvidos, mesmo o Brasil possuindo a maior biodiversidade vegetal do mundo (CASTRO, 2006; FOGLIO et al., 2006).

3.8.1 *Bowdichia virgilioides*

A *Bowdichia virgilioides* é uma árvore leguminosa, pertencente à família *Fabaceae*, subfamília *Papilionoidae* e é conhecida popularmente como "sucupira", "sucupiraroxa" ou "sucupira-preta" (KANEAE et al., 2000; LIMA, 2008; SILVA et al., 2011a). Esta espécie é abundante no Brasil, sendo sua ocorrência mais comum nas regiões Norte e Nordeste, bem como nos cerrados do Planalto Central e em outras savanas da América do Sul (KANEAE et al., 2000; SAMPAIO et al., 2001; ALBUQUERQUE; GUIMARÃES, 2007).



Figura 1. *Bowdichia virgilioides* (Sucupira-preta). <http://www.fiocruz.br>

A árvore da *B. virgilioides* apresenta casca grossa e fendilhada, sendo que sua altura pode chegar a 20 metros. O tronco possui diâmetro máximo de 60 centímetros. Possui folhas compostas, pinadas, com folíolos pubescentes. A floração pode ocorrer entre os meses de agosto a dezembro, com a árvore quase totalmente despida da folhagem, porém apresentando pequenas flores, com corola lilás, conferindo um aspecto ornamental e apícola à planta. Os frutos são caracterizados por serem legumes, indeiscentes, achatados, com pequenas sementes de coloração avermelhada (ROJAS; RIBBON, 1997; SAMPAIO et al., 2001; SMIDERLE; SOUSA, 2003).

A *B. virgilioides* é considerada uma planta pioneira e adaptada à seca e terras pobres. Sua madeira é estriada, de cerne pardo escuro, de alta densidade e longa durabilidade natural, sendo empregada para acabamentos internos, como assoalhos, lambris, molduras, painéis e portas, em áreas externas como postes, cercas (principalmente em áreas sujeitas a queimadas anuais, devido a sua elevada resistência ao fogo) e na construção civil, o que confere elevada importância econômica a esta planta. Por ser eminentemente ornamental em sua floração, a árvore é empregada no paisagismo, útil para a arborização urbana (SAMPALIO et al., 2001; SILVA et al., 2001; SMIDERLE; SOUSA, 2003; ALBUQUERQUE; GUIMARÃES, 2007; SILVA et al., 2011-a).

O uso da *B. virgilioides* na medicina popular é bastante abrangente e diversificado. São relatados de acordo com o uso empírico, aplicações da planta para os diferentes tipos de doenças tais como: no tratamento da diarreia, reumatismo, dor de cabeça e aneurisma (GOMES et al., 2008), diabetes, adstringente (ARRIAGA et al., 2000, SILVA et al., 2010-a) bronquite, gota, tônico do corpo e facilitador da digestão, hipertermia (BARROS et al., 2010), depurativa, leishmaniose (SANTANA et al., 2010), anti-úlceras, antisséptico e doenças de pele (BARBOSA –FILHO, 1997; ALMEIDA et al., 2006), anti-malárico (MARIATH et al., 2009) e de inflamações em geral (SMIDERLE; SOUSA, 2003).

Já foram descritas e comprovadas cientificamente atividades anti-hiperglicemiante, antimalárica (DEHARO et al., 2001), antimicrobiana (ALMEIDA et al., 2006), inibidor da enzima acetilcolinesterase (BARBOSA-FILHO et al., 2006), anti-inflamatória e analgésica (SILVA et al., 2010-b; THOMAZZI et al., 2010).

Dentre os compostos já encontrados na espécie pode-se citar alcalóides e terpenóides, flavonóides, taninos, taninos condensados, isoflavonas, triterpenóides, flavonóides glicosídicos, agliconas, fenóis, cetonas, saponinas, da planta *in natura* ou de extratos orgânicos e/ou inorgânicos (BARBOSA-FILHO, 1997; TRUGILHO et al., 1997; ARRIAGA et al., 2000; ALMEIDA et al., 2006; SILVA et al. 2007; VEITCH, 2009; BARROS et al., 2010; SANTANA et al., 2010; SILVA et al., 2010-b; THOMAZZI et al., 2010).

3.9 Manuscrito

A seguir, os resultados obtidos durante o Mestrado em Educação Física, bem como a metodologia e a discussão foram sistematizados na forma de um artigo científico e submetido na revista Journal of the International Society of Sports Nutrition (fator de impacto = 1,50) e está classificado como A2 na área de Educação Física até a presente data.

IV - ARTIGO

Protective Effect of Hydroethanolic Extract of *Bowdichia virgilioides* on Muscular Damage and Oxidative Stress in Rats Caused by Strenuous Resistance training

Short Title: Hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* and its effect on oxidative stress in plasma and skeletal muscle damage

Jymmys Lopes dos Santos^{1,2}, Clésio Andrade Lima³, Silvan Silva de Araújo³, Elis Cristiane Valença de Almeida³, Rafaela Eugênia Arce Dantas², Anderson Carlos Marçal^{2*}, Charles dos Santos Estevam³

¹Postgraduate program in Physical Education, Department of Physical Education, Federal University of Sergipe, 49100-000, São Cristóvão, SE, Brazil

²Center for Research in Intracellular Signaling, Department of Morphology, Federal University of Sergipe, 49100-000, São Cristóvão, SE, Brazil

³Laboratory of Natural Product Chemistry and Biochemistry, Department of Physiology, Federal University of Sergipe, 49100-000, São Cristóvão, SE, Brazil

E-mail address: acmarcal@yahoo.com.br

Abstract

Background: The use of natural antioxidants can reduce oxidative damage caused by High-intensity resistance training (RT). We propose to investigate the “*in vitro*” antioxidant potential of the hydroethanolic extract (HEE) of *Bowdichia virgilioides* (BV) on muscular damage, and oxidative stress in rats subjected to high-intensity RT.

Methods: Thirty-two Male Wistar rats (3 months old) were divided into four experimental groups: 1) Control group (CG), vehicle-treated (Tween 80), oral administration (P.O.); 2) Trained group (TG), vehicle-treated, and resistance training; 3) BV untrained group (BVG), treated with HEE of BV (200 mg·kg⁻¹ - P.O.); 4) Trained BV group (TBVG), treated with HEE of BV (200 mg·kg⁻¹, P.O.). Animals from groups CG, TG, GBV and TBVG underwent habituation to the apparatus for one week. After that, the animals of groups CT and TBVG were subjected to the training protocol with three sets of 10 repetitions (rest intervals of 60 s), with 75% of the load established using the one-repetition maximum, three times a week on alternate days, during four weeks. The groups CG and GBV were manipulated and fixed to the apparatus three times a week (with no load). The treatment of animals with HEE of BV was initiated after 25 days of RE (5 days; one dose per day). Control group was treated with vehicle in the same conditions. At the end of experiments, plasmatic and gastrocnemius fractions from all groups were isolated for the assessment of lipid peroxidation (according to thiobarturic acid method), and Creatine kinase activity.

Results: Lipid peroxidation in plasma and tissue was diminished at 55.68% ($p<0.0001$), and 66.61% ($p<0.0012$), respectively, from TBVG comparing to TG. In addition, oxidative stress was diminished at 62.83% ($p<0.0005$), and 54.97% ($p<0.0197$) in plasma and skeletal muscle, respectively, from TBVG comparing to TG.

Conclusions: HEE of BV was capable of reducing some oxidative stress markers caused by high-intensity RT. We also observed that consuming HEE of BV during training significantly prevented or reduced the content of some marker enzymes of tissue damage.

Keywords: Oxidative stress; physical exercise; hydroethanolic extract.

Background

Physical exercise is characterized as any form of muscular activity that induces a series of physiological responses in body systems and that maintains physical fitness. [1,2,3] Amongst the different types of exercise, resistance training (RT) is characterized as physical activity involving voluntary contractions of the skeletal muscles of a given body segment against an external resistance, i.e., against a force that opposes motion, with this opposition being one's own body mass, through free weights or other equipment such as strength training and elastic or manual resistance machines.[2,3]

Resistance training is considered as a safe form of physical exercise and, thus, is practiced by individuals of various age groups. Currently, it is recognized as a significant promoter of health in diverse populations .[4,5] The benefits of resistance training include increasing muscular resistance and force[6] individuals and blood sugar levels in diabetic individuals .[7] However, during high intensity resistance training, muscles undergo periods of ischemia-reperfusion,[8] which is a mechanism responsible for the increase in free radicals (FR) such as hydroxyl ($\text{HO}\bullet$), alkoxy ($\text{RO}\bullet$), peroxy ($\text{ROO}\bullet$) and superoxide ($\text{O}_2^{\bullet-}$) radicals, and non-radicals such as hydrogen peroxide (H_2O_2), oxygen ($^1\text{O}_2$), and ozone (O_3).[9, 10] These molecules, which are constantly in search of stability, react with the electrons of biomolecules, proteins, lipids, carbohydrates and nucleic acids consequently leading to changes in cell function and cell death. Moreover, FR is associated with mechanisms of post-exercise inflammatory response, possibly with the propagation of muscular damage. [11]

Oxidative stress is an organic condition that is detrimental to the body, in which there is an imbalance of oxidants and antioxidants.[12,13] It is not only caused by overtraining, but also by other factors known as xenobiotics, some of which include exposure to pollutants, use of antibiotics and UV radiation.[14] Also, high-intensity resistance training can cause microtears in muscular tissue; evidence shows that leucocytes and cells of the immune system then migrate to the damaged area, thereby triggering an increase in the production of free radicals and other reactive species involved in the activation of inflammation mediators.[15] Moreover, Hawke[16]

and Saxton et al.^[17] stated that muscular damage and the inflammatory process are proportional to the exercise intensity. It is possible that these injuries are related to both the contractile as well as non-contractile component, such as the extracellular matrix, sarcolemma and the basal membrane. ^[18,19,20, 21] In other studies, some authors showed that chronic exercise training may cause depletion of many antioxidants, as a consequence, when was associated with a diminished ingestion of nutrients with antioxidant proprieties, may increase exercise-induced oxidative stress and tissue damage. ^[22]

As for preventing or minimizing the deleterious effects of oxidative stress, a number of approaches have been taken, some of which include the use of natural and synthetic antioxidants such as vitamin C (ascorbic acid), E (α -tocopherol), A (β -carotene), and polyphenols of medicinal plants. ^[9, 23, 24] Moreover, recent studies have observed that in human beings, the high or regular intake of food rich in polyphenols can reduce oxidative damage in response to physical exertion caused by high-intensity physical resistance training. ^[25, 26, 27] In rodents supplemented with oil grape seed extract, which contained a higher concentration of polyphenolics ^[28], there was a diminished lipid peroxidation and DNA damage ^[29, 30] This evidence suggested that supplementation with substances with higher levels of anti-oxidative molecules may play an important role in the maintenance of oxidative stress at suitable conditions to attenuate muscular damage after high-intensity physical exercise.

We propose, for the first time, to investigate the *in vitro* antioxidant potential and the protective effect of the hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* on muscular damage and oxidative stress parameters in rats subjected to high intensity RT. We hypothesized that supplementation with *Bowdichia virgilioides* would reduce lipid peroxidation and prevent muscle injury in rats high-intensity resistance training.

Methods

Animals and treatment period

Thirty-two Male Wistar rats, 3-month-old were used (weight range: 200–250 g) obtained from the bioterium at UFS. The rats were randomly housed (four rats per cages) and kept under temperature-controlled conditions ($22 \pm 3^\circ\text{C}$) with a light-dark cycle of 12 h (lights on between 06:00 h – 18:00 h), free access to food specific to rodents (Labina®) and water *ad libitum*. All the procedures described in this study were approved by the Animal Research Ethics Committee at UFS (protocol 10/12).

The animals were divided into four groups: 1) Control group (CG, $n = 8$) composed of healthy by vehicle-treated animals (Tween 80, P.O., (Vetec, LTDA, Rio de Janeiro-Brazil) and electrostimulation; 2) Trained group (TG, $n = 8$) composed by healthy vehicle-treated animals (Tween 80, at 3% P.O.) and subjected to resistance training protocol; 3) Group *Bowdichia virgilioides* (GBV, $n = 8$) composed by healthy animals treated with extract of *Bowdichia virgilioides* (200 mg·kg⁻¹, P.O); 4) Trained extract of *Bowdichia virgilioides* Group (TBVG, $n = 8$) composed by animals subjected to resistance training and treated with hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* (200 mg.kg⁻¹, P.O). All animals were either vehicle-treated or received hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* on day 25 of the resistance training protocol (for five days of treatment period, according to the below mentioned at Training protocol), which is shown in the organogram (Figure 1).

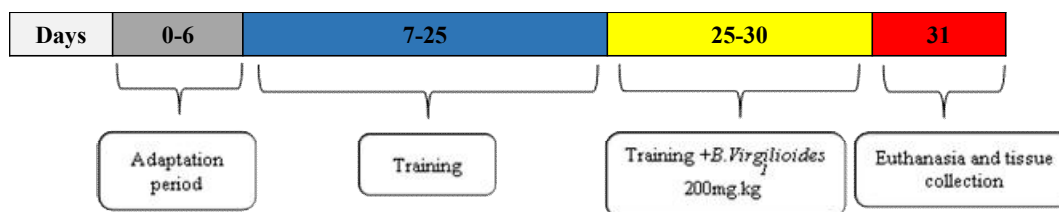


Figure 1. Organogram of the experimental protocol. The experiment was held in 30 days for all animal groups: 0 – 6st day were submitted to an adaptation period without charge (white bars); 7st - 25st day of training without the use of *Bowdichia virgilioides*, 26st – 30st (5 days with intake of the extract *Bowdichia virgilioides*) after initiating the resistance training session, and 31 days the animals were submitted to euthanasia.

The inner bark of *Bowdichia virgilioides* was collected in March 2011 from the village of Fazenda Riachão, in the municipality of Japaratuba, Sergipe, Brazil (10°32'04.49 S, 36°53'57" W). The exsiccate of this species was stored in the herbarium at the Federal University of Sergipe (UFS) under the reference ASE 23.107.

Antioxidant potential and redox property of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides*

The samples were dissolved in methanol to obtain a stock solution of 0.5 mg/mL, from which aliquots were removed and added to a solution of 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH•) (Sigma-Aldrich, Steinheim-Germany) (40 µg/mL) to obtain final concentrations of 5, 15, and 25 µg/mL in a final reaction volume of 3 mL. The blank was composed of a mixture of the analyzed sample and methanol (Vetec, LTDA, Rio de Janeiro--Brazil); gallic acid (Abiquim, São Paulo-Brazil) was used as the positive control.

The absorbance values of each sample were obtained using an spectrophotometer at a wavelength of 515 nm, and the readings were taken at 1, 5, and 10 min and at 10-min intervals thereafter, up to 60 min Souza et al.^[31] The percentage of DPPH (DPPHREM%) remaining was calculated according to the method stated by Brand-Willams et al. ^[32] using the following equation:

$$\text{DPPHREM\%} = (\text{DPPH}) T / (\text{DPPH}) T_0 \times 100$$

where [DPPH] T is the concentration of radicals in the reaction medium after reaction with the sample; and [DPPH] T₀ is the initial concentration of DPPH. From the DPPHREM% values, the inhibition percentage at 60 min was calculated.

Measuring lipid peroxidation *in vitro*

The capacity of the HEE of BV to inhibit lipid peroxidation was determined by monitoring the production of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the lipid medium, according to the protocol described by Brand-Williams et al.^[32] For the quantification of TBARS, the protocol of Lapenna et al. was used.^[33] Briefly, 1.0 mL of egg yolk homogenate (1% w/v) was completely dissolved in a 20-mM phosphate buffer solution (pH 7.4) and then homogenized with 0.1 mL of HEE; the positive control at different concentrations (50, 100 and 200 µg/mL) was prepared immediately after the experiment using methanol.

Lipid peroxidation was induced upon the addition of 0.1 mL of 0.17 M solution of 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) (Sigma-Aldrich, Steinheim-Germany) and of a 0.17 M solution of iron sulfate (FeSO₄) (Sigma-Aldrich, Steinheim-Germany) at different time points. Trolox (Sigma-Aldrich, Steinheim-Germany) was used as the positive control, and the extract and solvent (water or methanol) were used as the negative control. The reactions lasted for 30 min at 37°C. After cooling, the samples (0.5 mL) were centrifuged in the presence of 0.5 mL of 15% trichloroacetic acid (TCA) (Vetec, LTDA, Rio de Janeiro-Brazil) at 1,200 g for 10 min. A 0.5 mL aliquot of the supernatant was mixed with 0.5 mL of 0.67% thiobarbituric acid (TBA) (Sigma-Aldrich, Steinheim-Germany) and heated at 95°C for 60 min. After cooling, the absorbances were measured using a spectrophotometer at a wavelength of 532 nm. The results were expressed as percentages of inhibition.

High-performance liquid chromatography

The high-performance liquid chromatography (HPLC) system used includes a Shimadzu Prominence chromatograph composed by two LC-6AD pumps, an autoinjector, DGU 20 A5 degasser, solvent selector valve and photodiode detector (DAD SPD M20A). For chromatographic analysis, two C18 columns were used, as well as an analytical column (25.0 × 0.46 cm, 5-mm particles) and another preparatory column (25.0 × 2 cm, 5-mm particles), both manufactured by Shimadzu®. To obtain and process the data, the chromatographic software LC Solution was used.

Training protocol

Resistance training was carried out using a squat machine; the animals wore a leather jacket, connected to a mobile 35-cm long wooden bar, and the loads were allocated. The rats wearing jackets remained sitting down with their back legs bent and supported, according to the model by Tamaki et al. [34] All animals from groups CG, TG, GBV, and TBVG underwent habituation to the apparatus for one week, where they received electrostimulation. After this period, the animals of groups CT and TBVG were subjected to the training protocol of three sets of 10 repetitions, with rest intervals of 60 s, at an intensity of 75% of the load established using the one-repetition maximum (1RM) test, three times a week on alternate days, during four weeks [35]. The training load and intensity were adjusted every two weeks following a new 1RM test. The animals of groups CG and GBV were manipulated and fixed to the apparatus three times a week, with electrostimulation on alternate days, using three sets of 10 repetitions and rest intervals of 60 s; however, with no load, 0% intensity (**Table 1**).

Table 1. Resistance training protocol

Week	Intensity (%)	Days of the week**	Sets	Repetitions	Interval (s)
1 ^a	75	3	3	10	60
2 ^a	75	3	3	10	60
3 ^a	75	3	3	10	60
4 ^a	75	3	3	10	60

* Tamaki et al. (1992). **Alternate days.

The training was conducted for 4 weeks on alternate days at 75% intensity defined by MRI with 3 sets and 10 reps with 60-second intervals between a series and another.

The animals were stimulated by applying electrical stimulation during each set (20 V/0.3 s in duration, 3-s interval) using electrodes (ValuTrobe, Model CF3200, Axelgaard, Fallbrook, CA, USA) fixed to the tail and connected to an electrostimulator (BIOSET, Physiotonus Four, Model 3050, Rio Claro, SP, Brazil).

Collection of biological material

Twenty four hours after the last session, the animals were anesthetized using sodium thiopental (Cristália, Itapira São Paulo-Brazil) (40 mg/kg, i.p.) and sacrificed (all animals were submitted to overnight fasting); the blood was collected by means of cardiac puncture, and then the rats were decapitated. After the blood was collected, it was immediately centrifuged at 800 *g* for 15 min at $\pm 4^{\circ}\text{C}$, and the supernatant was stored at $\pm -80^{\circ}\text{C}$. The organs were removed, and the gastrocnemius muscle was washed three times in a solution of 1.15% potassium chloride (KCl, Vetec, LTDA, Rio de Janeiro-Brazil)), dried and then weighed. These were then homogenized, and each gram of tissue was mixed with 5 mL of KCl + 10 μL of phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF, 100 mmol^{-1} , Sigma-Aldrich, Steinheim-Germany) + 15 μL of 10% Triton solution, centrifuged at 3,000 *g* for 10 min at $\pm 4^{\circ}\text{C}$, and the supernatant was stored at $\pm 70^{\circ}\text{C}$ until further analyses of markers of oxidative stress and tissue damage.

Biochemical analysis

Eight animals from each group were anesthetized using sodium thiopental (Cristália, Itapira São Paulo-Brazil) (40 mg/kg, i.p.) and sacrificed (all animals were submitted to overnight fasting); the blood was collected by cardiac puncture, and then the rats were decapitated. After the blood was collected, it was immediately centrifuged at 800 *g* for 15 min at $\pm 4^{\circ}\text{C}$, and the supernatant was stored at $\pm -80^{\circ}\text{C}$. The biological materials (plasmatic fraction) were collected, prepared and analyzed for markers of tissue damage and oxidative stress according to the methodology described by Castello Branco et al.^[36] The quantification of the damaged tissue caused by high-intensity resistance training was assessed by measuring the enzyme

markers of tissue damage such as creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). For quantification, a commercial kit (Labtest®, Santa Lagoa, Minas Gerais-Brazil) was used, where 20 µL of plasma from each animal was homogenized in specific reagents at $37 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ and readings were taken using a spectrophotometer (Biospectro Model SP-22 UV/Visible, Minas Gerais - Brazil) at a wavelength of 340 nm.

To determine lipid peroxidation, the oxidation of lipids was determined by measuring thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) according to the method of Lapenna et al. [33] For the assessment of carbonyl protein assessment, the oxidation of proteins was assessed by determining carbonyl residues (CR) according to the methodology of Faure and Lafond. [37]

Statistical analyses

The results are represented as mean $\pm$ standard deviation (SD). Differences between the samples were considered statistically significant when $P < 0.05$. All the analyses were carried out in triplicate. After assessing the normality of the data using the Shapiro Wilk test, the data were statistically analyzed amongst groups using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Bonferroni or Dunnett multiple tests when appropriate. For the majority, the statistical software Graph Pad Prism version 5.0 was used.

Results

Antioxidant potential and redox property of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides*

To verify the antioxidant potential, the reduction of DPPH free radical activity test was carried out; HEE of BV presented a dose-dependent antioxidant activity (**Figure 2**), with significant variations between concentrations (5–30 mcg·mL), and with an IC₅₀ of $33.45 \pm 5.97 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for 60 min.

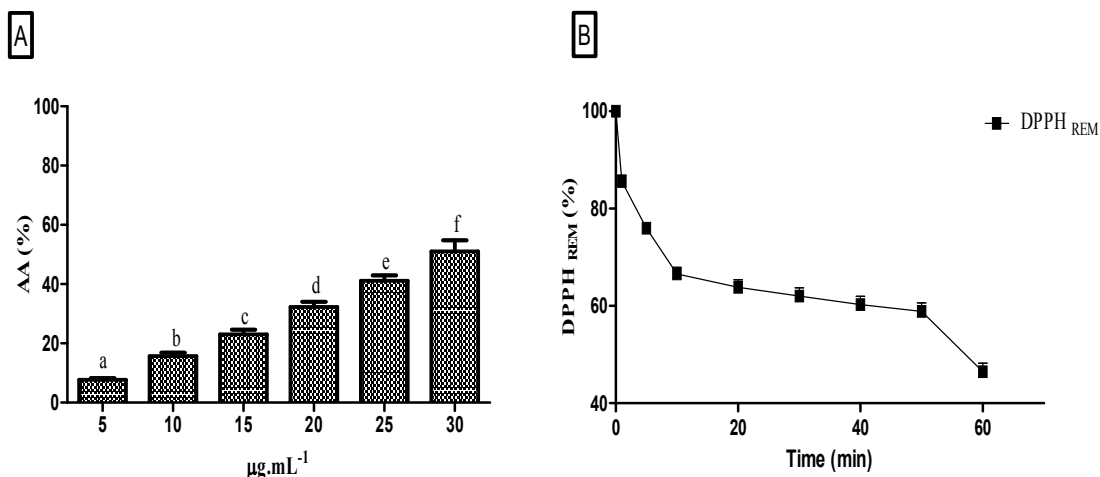


Figure 2. The percentage of antioxidant activity of different concentrations of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* during the 60 min exercise (A). Kinetic behavior of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* at a concentration of 25 µg.mL⁻¹ to reduce DPPH free radical (B). Results are expressed as mean ± standard deviation (SD). The statistical difference between the concentrations was determined by using one-way ANOVA, followed by Bonferroni post-hoc test. Different letters on the graph stand for a statistical difference between the concentrations of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* used ($P < 0.05$). All experiments herein were performed in triplicate.

From the data, it was possible to verify that hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* had an antioxidant activity index of (AAI) of 0.89 ± 0.05 , which classifies it as having a moderate antioxidant effect [38]. We also observed that hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* had moderate reaction kinetics, with 60 min considered necessary to reduce the amount of DPPH radicals by more than half, as shown in **Figure 2** via the dose-response curve, showing the percentage decrease of remaining DPPH (% DPPH_{REM}) over time (min).

Redox property of HEE of *B. virgilioides*

The hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* showed a high capacity to prevent lipid peroxidation that was induced by iron sulfate with respect to lipid peroxidation induced by 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH). It also showed a high potential as a chelating agent of transition metals and neutralizer of Fenton reactions. Regarding the prevention of lipid peroxidation induced by two

inductors, the results for hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* were statistically similar ($p > 0.05$) to the positive control, Trolox, as shown in **Figure 3**.

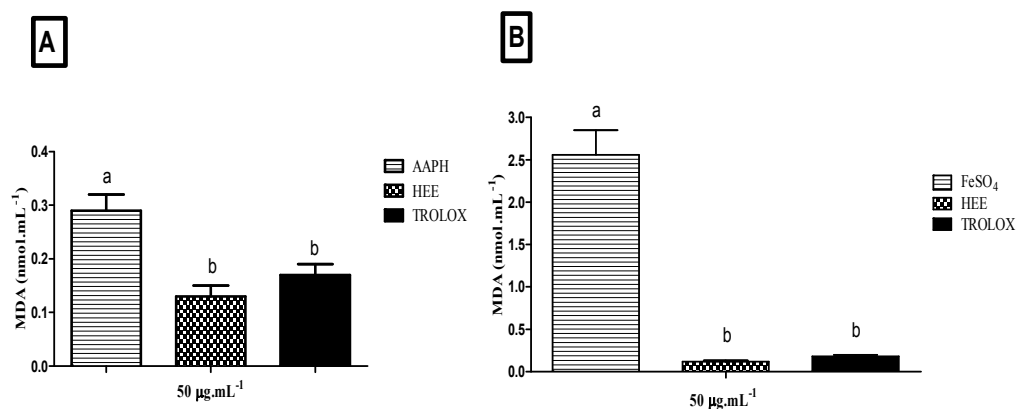


Figure 3. The effect of the hydroethanolic extract from the inner bark of *B. virgilioides* at a concentration of 50 µg·mL⁻¹ on the lipid peroxidation induced by 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) (**A**) and FeSO₄ (**B**). The results are shown as the concentration of malondialdehyde formed (nmol·mL⁻¹). Values are expressed as mean ± standard deviation (SD). Different letters on the graph stand for a statistical difference between the groups. The statistical analysis was carried out using one-way ANOVA, followed by Bonferroni post-hoc test ($P < 0.05$). All experiments herein were performed in triplicate.

Phytochemical profile and the total phenolic content of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides*

The chromatographic profile assessed as HPLC-DAD of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* showed a characteristic fingerprint of medium to high polarity substances similar to phenolic compounds as shown in **Figure 4**. This result obtained was similar to Im and colleagues [39].

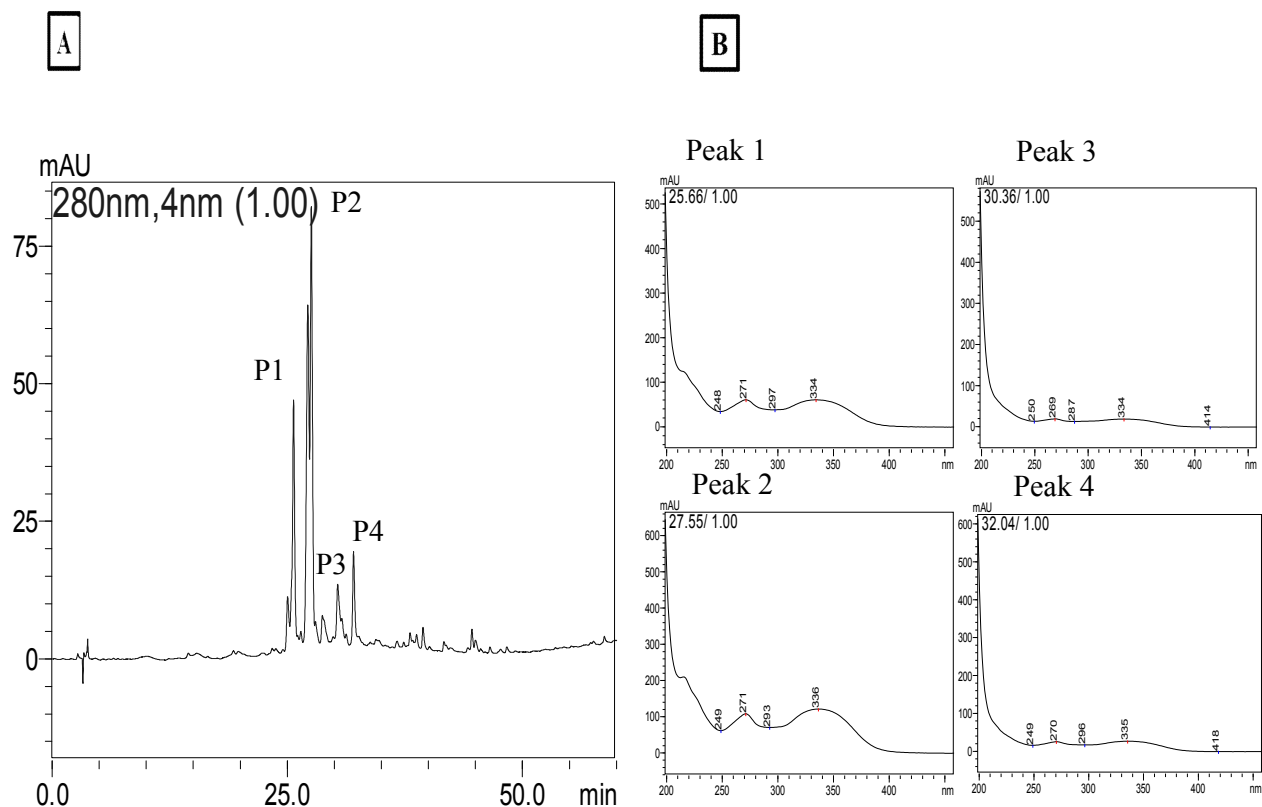


Figure 4. Chromatographic profile of hydroethanolic extract from the inner bark of *Bowdichia virgilioides* on the experimental 5:100% water/methanol condition gradient, measured at a wavelength of 250 nm - 350 nm with the absorption spectra of UV / Vis prominent peaks (A) of spectra, and segmented (B) for each peak: Peak 1 - band "A" 271 nm, and band "B" = 334 nm; Peak2 - band "A" 271 nm, and band "B" 336 nm; Peak3 - band "A" 269 nm, and band "B" 334nm; Peak 4 - band "A" 270 nm, and band "B" 335nm.

Quantification of the total phenol content

Total phenol content was quantified using the spectrophotometer, the total phenolic compound content was assessed to be 128.05 ± 26.10 mg eq AG/g of extract from *Bowdichia virgilioides*.

Effect of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* on the reduction or prevention of oxidative stress induced by high intensity resistance training

To assess the effects of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* in the body, we studied the effects of ingesting hydroethanolic extract of *Bowdichia*

virgilioides in animals trained during a resistance training period, whereby the animals that ingested the *Bowdichia virgilioides* presented a reduction in some oxidative stress markers. In **Figure 5**, we observe a significant reduction in plasma (55.68%, $p < 0.0001$) and tissue (66.61%, $p < 0.0012$) lipid peroxidation in the group that ingested hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides*, trained group *bowdichia virgilioides* (TBVG) during the training period compared to trained group (TG). This finding shows that hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* can effectively reduce oxidative stress in cellular lipid components.

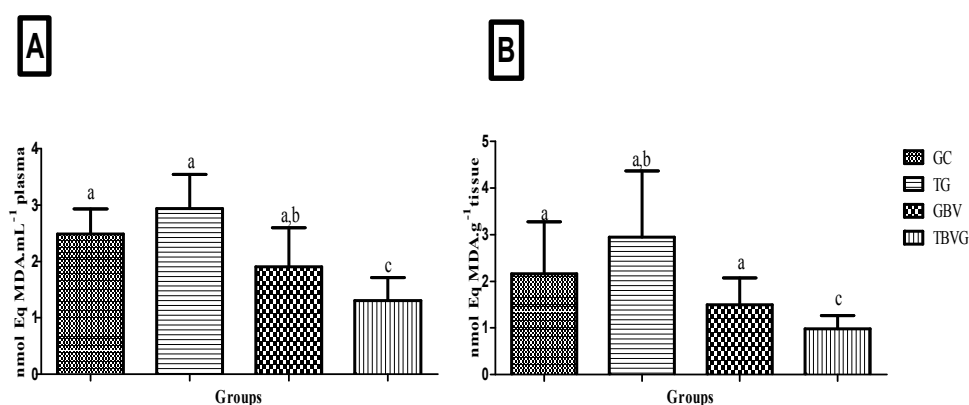


Figure 5. Effect of hydroethanolic extract intake from the inner bark of *Bowdichia virgilioides* on plasma samples, and muscular lipid peroxidation induced by high-intensity exercise. (A) refers to samples of plasma and (B) to muscular tissue from all animal groups: trained group (TG), trained *Bowdichia virgilioides* group (TBVG), control group (CG) and group *Bowdichia virgilioides* (GBV), each consisting of eight animals. The values represent the mean $\pm$ standard deviation (SD), different letters indicate significant differences between groups ($P < 0.05$). The statistical differences were determined using one-way ANOVA, followed by Bonferroni post-hoc test. All experiments herein were performed in triplicate.

Moreover, we also verified that the hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* more efficiently prevented and/or reduced oxidative attachment of proteins, as shown in **Figure 6**. Hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* significantly prevented the oxidation of proteins in GBV compared to CG as well as in trained group *bowdichia virgilioides* (TBVG) compared to trained group (TG). This reduction or prevention of plasma and tissue oxidation is approximately 62.83% ($p < 0.0005$) and 54.97% ($p < 0.0197$), respectively, in group *bowdichia virgilioides* (GBV)

compared to that in control group (CG). In the group trained *bowdichia virgilioides* (TBVG) compared to trained group (TG), the rate of oxidative reduction prevention was 58.90% ($p < 0.0013$) in the plasma and 52.75% ($p < 0.0059$) in the muscular tissue.

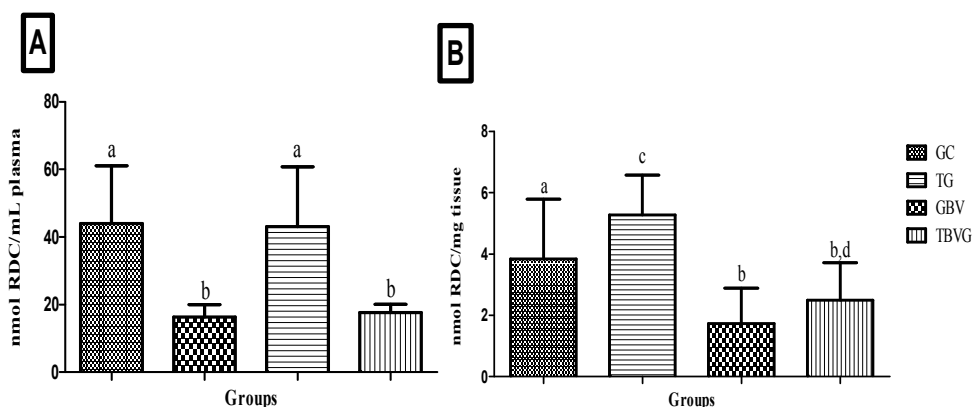


Figure 6. Effect of HEE of *B. virgilioides* on the oxidation induced by high intensity exercise. (A) refers to samples of plasma and (B) to muscular tissue from all animal groups: trained group (TG), trained *Bowdichia virgilioides* group (TBVG), Control group (CG) and Group *Bowdichia virgilioides* (GBV), each consisting of eight animals. The values represent the mean $\pm$ standard deviation (SD) and different letters stand for significant differences between groups ($P < 0.05$). The statistical differences were determined using one-way ANOVA followed by Bonferroni post-hoc test. All experiments herein were performed in triplicate.

Effect of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* on the prevention of tissue damage induced by high intensity resistance training

The results presented in **Table 2** suggest that high intensity resistance training induces muscular tissue damage (Group TG vs. CG). There was a significant increase (173.18%, $p < 0.0001$) in the amount of plasma creatine kinase (CK) in trained group (TG) compared to control group (CG). We also observed that the consumption of HEE of BV during training prevented an increase in the number of marker enzymes of tissue damage in group trained *bowdichia virgilioides* (TBVG) compared to that of group trained (TG) such as creatine kinase, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase.

Table 2. Serum concentrations of the tissue damage enzymes in UI/L.

GROUPS	CK $\pm$ (SD)	LDH $\pm$ (SD)	ALT $\pm$ (SD)	AST $\pm$ (SD)
CG	198.7 $\pm$ 35.21 ^A	23.61 $\pm$ 14.57 ^{A,B}	47.15 $\pm$ 27.62 ^A	128.9 $\pm$ 42.76 ^A
GBV	199.0 $\pm$ 72.13 ^{A, C}	8.75 $\pm$ 3.94 ^B	10.05 $\pm$ 7.84 ^B	92.95 $\pm$ 45.48 ^A
TG	542.0 $\pm$ 43.00 ^B	27.12 $\pm$ 17.19 ^A	37.10 $\pm$ 12.57 ^A	92.57 $\pm$ 23.90 ^A
TBVG	101.4 $\pm$ 80.75 ^{B, C}	9.25 $\pm$ 5.59 ^B	9.11 $\pm$ 4.44 ^B	30.03 $\pm$ 19.96 ^B

CK: creatine kinase, LDH: lactate dehydrogenase, ALT: alanine aminotransferase and AST: aspartate aminotransferase. Trained group (TG), trained *Bowdichia virgilioides* Group (TBVG), control group (CG), and group *Bowdichia virgilioides* (GBV).

* Values with different letters stand for significant differences ($p < 0.05$). Data presented as means plus or minus standard deviation (SD). The statistical differences were determined using one-way ANOVA followed by Bonferroni post-hoc test. ($n = 8$, for all animal groups).

Discussion

In this study, we showed that the intake of Hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* caused a moderate antioxidant effect *in vitro*, although a characteristic profile of substances with medium to high polarity has been diagnosed. In addition, we reported a significant reduction in markers of oxidative stress and muscle damage from rats submitted to resistance training when supplemented by Hydroethanolic extract *Bowdichia virgilioides*.

According to Wang and Huang ^[40], supplying animals with polyphenol-based compounds can prevent lipid peroxide damage of cellular compounds. Similarly, Bansala et al.^[41] reported that products rich in polyphenols are also effective in preventing both lipid peroxidation and protein oxidation in various animal tissues subjected to a high-intensity exercise protocol. That is because some of these compounds present amphipathic antioxidant properties, which increase their effects on cellular structures, neutralizing both intracellular and extracellular oxidizing agents.^[42] Moreover, some of these polyphenols have significant antioxidant

properties under low partial pressures of oxygen, a condition typical of skeletal muscles during intense exercise.^[43,44,45]

Phenols belong to a group of compounds whose structures extensively vary (simple and complex) and are characterized by one or more hydroxyl groups linked to an aromatic ring. They are subdivided into several categories, including simple phenols, phenolic acids (derived from benzoic and cinnamic acid), coumarins, flavonoids, stilbenes, condensed and hydrolysable tannins, lignans and lignins, which also confirm the results of the phytochemical experiments.^[27,46] It also confirms that these compounds are responsible for preventing lipid peroxidation, primarily due to their capacity to chelate transition metals, cellular oxidizing agents, especially those that interact with intracellular proteins.^[47,48]

When we assessed hydroethanolic extract *Bowdichia Virgilioides* through chromatographic analysis (High-performance liquid chromatography), we detected that peaks with absorption spectra in UV / VIS were characteristic of phenolic compounds such as flavonoids. These absorption spectra show variation between 250 nm - 350 nm ^[49], as observed in the spectra. This evidence is supported by studies of Im and colleagues,^[38] which describe fingerprints characteristic for phenolic compounds of varying polarity. Data suggest that these molecules may be responsible for preventing lipid peroxidation detected after carrying out the proposed resistance training in our study. That is partly due to the ability of phenols to chelate transition metals, which prevents cellular oxidizing agents ^[49]. Moreover, the compounds present in the extract are also capable of reducing lipid peroxidation, thereby neutralizing peroxy radicals that originate from the lipid peroxidation cascade. The compounds present in the *Bowdichia virgilioides* extract were also capable of reducing lipid peroxidation induced by 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) and neutralizing peroxy radicals, suggesting that they have an important role in the neutralization and sequestration of free radicals and chelation of transition metals, frequently acting in the initiation and propagation stages of the oxidative process.^[27] This process may occur due to the phenols present in the hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides*, which were similar to those found by Dias et al.^[50] in *Abarema cochliacarpus* and that presented high antioxidant activity.

The high antioxidant activity of phenols increases with the degree of hydroxylation and depends on the rearrangement of functional groups around the nuclear structure of the molecule.^[51,45] Thus, during reaction with a free radical, these compounds donate hydrogen with an unpaired electron, giving rise to another radical, which is stabilized by the rearrangement of electrons produced in the molecular resonance structure of the aromatic ring.^[52,53] The relevance of these data to this study is based on the fact that many studies show a significant correlation between high phenol content and antioxidant activity; that activity arises from the secondary metabolism in plants possessing these phenols, being primarily attributed to the hydroxyl groups attached to the aromatic ring. ^[45,52,53,54,55,56] Similar to extracts from other species, the hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* appears to have an antioxidant effect after the practice of intense resistance training.

Resistance training programs like the one adopted in this study are able to generate changes in muscle fibers due to neural adaptations ^[57]. Considering that high intensity resistance training causes tissue damage,^[42] animals subjected to the intensity of 75% of 1RM show muscular damage, as demonstrated by the increase in plasma Creatine kinase compared to control animals that did not engage in resistance training. Such alterations may contribute to the development of morphological adjustments in skeletal muscles (i.e. disruption of muscle fibers). However, one limitation of our study was the use of high-intensity resistance training for a period of four weeks. Thus, other studies should be made to demonstrate this hypothesis.

Because high-intensity resistance training causes tissue damage,^[42] this study has shown that animals subjected to resistance training at 75% of 1RM showed muscular damage, which was observed from the increase in specific and non-specific markers in the serum. There is scientific consistency concerning the enzymes as lactate dehydrogenase from the cytoplasm of skeletal muscle fibers ^[58,59], Aspartate aminotransferase from mitochondria of skeletal muscle and hepatocytes, Alanine aminotransferase from cytoplasm of hepatocytes ^[60] and Creatine kinase from cytoplasm of skeletal muscles, which increase in the serum as a result of disturbances to plasma membrane integrity. The animals that were treated

with hydroethanolic extract of *Bowdichia Virgilioides* showed a significant reduction in all of these markers.

According to Clarkson and Hubal^[61] and Deminice,^[19] the tissue damage caused by intense exercise primarily depends on the intensity and type undertaken. This damage usually occurs in contractile muscle fibers and components of the cytoskeleton, causing rupture, widening or lengthening of the Z-line, which is the contact point of contractile proteins and support for the transmission of force when muscle fibers contract. Breakage of the muscle fiber membrane (sarcolemma) may also occur.^[62] The exact mechanisms involved in muscle damage induced by resistance training are still not fully understood.^[63] However, the hypothesis that metabolic stress is associated with an increase in reactive oxygen species (ROS), with a consequence of oxidative stress, is becoming increasingly common in literature.^[64] Mastaloudis et al. ^[65] stated that RT increases the metabolism of prostanoids such as the enzymes xanthine oxidase and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase (NADPH) oxidase, oxidation of purine bases and proteins containing iron ions, and also causes disturbances in calcium (Ca^{2+}) homeostasis and other secondary sources. These events favor the increased production of oxidizing agents, triggering damage to cells and tissues. ^[66,67] Nonetheless, these evidences may seem conflicting, as reported by Kerksick and colleagues,^[68] who state that each marker exhibits different responses to the exercise. Regarding to lipid peroxidation, these authors found no increments following a program of eccentric exercise, which may be justified depending on the length, volume and intensity of the exercise adopted in both studies. Thus, our results showed tissue damage caused by mechanical stress of exercise as evidenced by the increase in serum levels of the enzyme markers as well as an increase in lipid peroxidation and protein oxidation in the trained group.

This study showed that a lower degree of muscular damage and oxidative stress in rats subjected to a high-intensity resistance training protocol were observed after ingesting the hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides*. Some authors state that tissue damage caused by oxidative stress during high-intensity resistance

training can be lessened through supplementation with antioxidants such as vitamins C, E, A and products derived from medicinal plants such as polyphenols.^[42,43, 69, 38,36]

The results of this study are in agreement with those of Panza,^[42] who reported that the consumption of green tea can prevent oxidative stress, as well as muscular damage in individuals engaged in high-intensity resistance training. According to this same author, green tea is a natural product rich in polyphenols, which are excellent antioxidants capable of neutralizing the deleterious effects of free radicals and other oxidizing agents produced during physical exercise. The level of phenols in hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* was moderate, and thus, showed a moderate antioxidant activity in terms of reducing 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH) free radicals.

Consuming hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* significantly reduced lipid peroxidation in the plasma and muscles of the animals in the group that exercised and was treated with hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides*. Nevertheless, we also found that there was a reduction in the level of oxidized protein in the group of animals who were given hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* compared to those who only exercised. These data suggest that the hydroethanolic extract can prevent or reduce muscular oxidative stress caused by high-intensity resistance training as well as minimize or prevent muscular tissue damage caused by oxidative stress. There was a reduction in the plasma creatine kinase content in the group of animals that were given hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* compared to the group that only engaged in exercise.

Conclusion

Our study showed that the hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* could reduce some markers of oxidative stress and tissue damage caused by high-intensity resistance training for a period of four weeks. We also suggested that the intake of hydroethanolic extract of *Bowdichia virgilioides* during and/or after resistance training may act as an important adjuvant to the reestablishment of muscular function.

List of abbreviations

Alanine aminotransferase (ALT)
 Aspartate aminotransferase (AST)
 Antioxidant activity index of (AAI)
 Alkoxy (RO•)
 Ascorbic acid (C)
 Bowdichia virgilioides(BV)
 Calcium (Ca^{2+})
 Carbonyl residues (CR)
 Creatine kinase (CK)
 Control group (CG)
 Free radicals (FR)
 Group Bowdichia virgilioides(GBV)
 Hydrogen peroxide (H_2O_2)
 Hydroxyl (HO•)
 Hydroethanolic extract (HEE)
 High-performance liquid chromatography (HPLC)
 Iron (II)sulfate (FeSO_4)
 Lactate dehydrogenase (LDH)
 Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase (NADPH)
 Oxygen (O_2)
 One-repetition maximum (1RM)
 Ozone (O_3)
 Potassium chloride (KCl)
 Peroxyl (ROO•)
 Physical exercise (PE)
 Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF)
 Resistance exercise (RE)
 Reactive oxygen species (ROS)
 Superoxide (O_2^-)
 Thiobarbituric acid (TBARS)
 Thiobarbituric acid (TBA)
 Trained group (TG)
 Trained BV Group (TBVG)
 α -tocopherol (E)
 β -carotene (A)
 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH)
 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Competing Interests and Author's Contributions

JLS was responsible for the study design, execution of biochemical analysis, statistical analysis and writing of the manuscript. CAL, SSA, READ, ECVA participated in the realization of biochemical analysis. CSE and ACM reviewed the statistical analysis, and manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge CAPES and FAPITEC for their funding support for this study. We also thank teacher Abilio Borghi for the assistance with the grammar review of the manuscript.

References

1. Powell KF, Caspersen CJ, Christenson GM: **Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research**:. *Public Health Rep* 1985, 100:126-131.
2. Raymond MJ, Bramley-Tzerefos RE, Jeffs KJ, Winter A, Holland AE: **Systematic Review of High-Intensity Progressive Resistance Strength Training of the Lower Limb Compared With Other Intensities of Strength Training in Older Adults**:. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 2013;94:1458-72.
3. Feo P: **Is high-intensity exercise better than moderate-intensity exercise for weight loss?**:. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2013, 23: 11, 1037–1042.
4. Munn J, Herbert RD, Hancock MJ, Gandevia SC: **Resistance training for strength: effect of number of sets and contraction speed**:. *Med Sci Sports Exerc* 2005, 37: 1622-1626.
5. Dibble LE, Hale TF, Marcus RL, Gerber JP, LaStayo PC: **High intensity eccentric resistance training decreases bradykinesia and improves quality of life in persons with Parkinson's disease: A preliminary study**:. *Parkinsonism & Related Disorders* 2009, 5: 10: 752–757.
6. Pierce K, Rozenek R, Stone MH: **Effects of high volume weight training on lactate, heart rate, and perceived exertion**:. *J Strength Cond Res* 1993, 7:211-215.
7. Barauna VG, Junior MLB, Costa Rosa LFBP, Casarini DE, Krieger JE and Oliveira EM: **Cardiovascular Adaptations in Rats Submitted To A Resistance-Training Model**:. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2005, 32, 249–254.
8. Ceci R, Reyes MBV, Duranti G, Dimauro I, Quaranta F, Pittaluga M, Sabatini S, Caserotti P, Parisi P, Parisi A, Caporossi D: **Oxidative stress responses to a graded maximal exercise test in older adults following explosive-type resistance training**:. *Redox Biology* 2014, 65–72.
9. Flora SJS: **Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility**:. *Free Radical Biology and Medicine* 2011, 51: 2, 15: 257–281.
10. Aitken RJ and Roman SD: **Antioxidant systems and oxidative stress in the testes**:. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2008, 1:1, 15-24.
11. Margonis K, Fatouros IG, Jamurtas ZA, Douroudos I, Nikolaidisb MG, Chatzinikolaou A, Mitrakou A, Mastorakos G, Papassotiriou I, Taxildaris K,

- Kouretas D, Chatzinikolaou A, Mitrakou A, Mastorakos G, Papassotiriou I, Taxildaris K, Kouretas D: **Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: Implications for diagnosis**:. *Free Radical Biology & Medicine* 2007, 43: 901–910.
12. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N: **Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health**:. *Pharmacogn Ver* 2010 Jul-Dec; 4(8): 118–126.
 13. Ji LL: **Antioxidants and oxidative stress in exercise**:. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999; 222(3):283-92.
 14. Thiele JJ, Hsieh SN, Briviba K, Sies H: **Protein Oxidation in Human Stratum Corneum: Susceptibility of Keratins to Oxidation In Vitro and Presence of a Keratin Oxidation Gradient In Vivo**:. *Journal of Investigative Dermatology*. 1999, 113: 335–339.
 15. Todo-Bom A, Pinto AM: **Exercício físico. Resposta imunoinflamatória**:. *Rev Port Imunoalergologia* 2007, 15: 123-133.
 16. Hawke TJ: **Muscle stem cell and exercise training**. *Exerc Sport Sci Rev* 2005; 33 2: 63-68.
 17. Saxton JM, Claxton D, Winter E, Pockley G: **Peripheral blood leucocyte functional responses to acute eccentric exercise in humans are influenced by systemic stress, but not by exercise-induced muscle damage**:. *Clin Sci (Lond)* 2003, 104 1: 69-77.
 18. Vierck J, O'Reilly B, Hossner K, Antonio J, Byrne K, Bucci L, Dodson M: **Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise**. *Cell Biol Int*. 2000; 24(5): 263-272.
 19. Stupka N, Lowther S, Chorneyko K, Bourgeois JM, Hogben C, Tarnopolsky MA: **Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise**:. *J Appl Physiol* 2000, 89:2325-2332.
 20. Deminice R, Rosa FT, Franco GS, Jordao AA, Freitas EL: **Effects of creatine supplementation on oxidative stress and inflammatory markers after repeated-sprint exercise in humans**:. *Nutrition* 2013, 29: 1127–1132.
 21. Deyne PG: **Application of Passive Stretch and Its Implications for Muscle Fibers**:. *Phys Ther* 2001; 81:819-827.
 22. Belviranlı M, Gökbel H, Okudan N And Büyükbaz S: **Effects of grape seed polyphenols on oxidative damage in liver tissue of acutely and chronically exercised rats**:. *Phytother Res* 2013 27: 672–677.
 23. Araújo MB, Moura LP, Junior RCV, Junior MC, Dalia RA, Sponton AC, Ribeiro C and Mello MAR: **Creatine supplementation and oxidative stress in rat liver**. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2013, 10:54, 1550-2783.

24. Wawrzyniak A, Górnicka M, Hamułka J, Gajewska M, Drywień M, Pierzynowska J, Gronowska-Senger A: **α -Tocopherol, ascorbic acid, and β -carotene protect against oxidative stress but reveal no direct influence on p53 expression in rats subjected to stress.** *Nutrition research* 2013; 33: 868–875.
25. Valko M, Leibfritz D, Moncol JAN, Cronin MTD, Mazur M, Telser J: **Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.** *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007, 39: 44-84.
26. Mcanulty SR, Mcanulty LS, Nieman DC, Dumke CL, Morrow JD, Utter AC, Henson DA, Proulx WR, George GL: **Consumption of blueberry polyphenols reduces exercise-induced oxidative stress compared to vitamin C.** *Nutr Res* 2004, 24:209-221.
27. Morillas-Ruiz JM, Villegas GJA, López FJ, Vidal-Guevara ML, Zafrilla P: **Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress.** *Clinical Nutrition* 2006 25: 444–453.
28. Jówko E, Sacharuk J, Balasinska B, Wilczak J, Charmas M, Ostaszewski P, Charmas R: **Effect of a Single Dose of Green Tea Polyphenols on the Blood Markers of Exercise-Induced Oxidative Stress in Soccer Players.** *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 2012, 22: 486–496.
29. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G: **Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids.** *Free Radic Biol Med* 1996, 20: 933–956.
30. Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Tran MX, Stohs SJ: **Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro.** *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997, 95: 179–189.
31. Souza CMM, Silva HR, Vieira JR, Ayres MCC, Da Costa CLS, Araújo DS, Cavalcante LCD, Barros EDS, Araújo PBM, Brandão MS, Chaves MH: **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.** *Química Nova* 2007 v. 30, p. 351-355.
32. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C: **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** *LWT - Food Science and Technology* 1995, 28: n.1, p 25-30.
33. Lapenna D, Ciofani G, Pierdomenico SD, Giamberardino MA, Cuccurullo F: **Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma.** *Free Rad Biol Med* 2001 31: 331-335.
34. Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S: **A weightlifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats.** *Med Sci Sports Exerc* 1992, 24: 881-886.

35. American College of Sport Medicine Position Stand: **Exercise and physical activity for older adults** :. *Med Sci Sports Exerc* 2009 v 41, 1510-1530.
36. Castello Branco ACS, Diniz MFFM, Almeida RN, Santos HB, Oliveira KM, Ramalho JA, Dantas JG: **Biochemical and Hematological Parameters of Wistar Rats and Swiss Mice in the Professor Thomas George Animal Laboratory**:. *R Bras Ci Saúde* 2011, 15: 2, 209-214.
37. Faure P, Lafond JL: **Measurement of plasma sulphydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation**:. *Birkhäuser Verlag* 1995, p. 237-248.
38. Scherer R, Godoy HT: **Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method**:. *Food Chemistry* 2009, 112 , 654–658.
39. Im HW, Suh Bs, Lee SE, Kozukue N , Ohnisi-Kameyama M , Levin CE, And Friedman M: **Analysis of Phenolic Compounds by High-Performance Liquid Chromatography and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry in Potato Plant Flowers, Leaves, Stems, and Tubers and in Home-Processed Potatoes**:. *J. Agric. Food Chem* 2008, 56: 3341–3349.
40. Wang, J, Huang Y: **Effects of exercise intensity of lymphocyte apoptosis induced by oxidative stress in men**:. *Eur J Appl Physiol* 2005, 95: 290-297.
41. Bansala P, Paula P, Nayaka PG, Pannakalc ST, Zoud JH, Laatschd H, Priyadarsinie KL, Unnikrishnan MK: **Phenolic compounds isolated from Pilea microphylla prevent radiation-induced cellular DNA damage**:. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2011, 1, 4: 226–235.
42. Panza VS, Wazlawik E, Schütz RG, Comin L, Hecht KC, Silva EL: **Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men**:. *Nutrition* 2008, 24 5:433-42.
43. Resnick AZ, Packer K: **Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay**:. *Methods Enzymol* 1994, 233: 263-357.
44. Rodriguez MC, Rosenfeld J, Tarnopolsky MA: **Plasma malondialdehyde increases transiently after ischemic forearm exercise**:. *Med Sci. Sports Exerc* 2003, 35: 11, 1859-1865.
45. Viitala PE, Newhouse IJ, LaVoie N, Gottardo C. The : **Effects of antioxidant vitamin supplementation on resistance exercise induced peroxidation in trained and untrained participants**:. *Lipids Health Dis* 2004, 3: 14.
46. Blainski A, Lopes GC, Mello JCP: **Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from Limonium Brasiliense L.**:. *Molecules* 2013, 18: 6852-6865.
47. Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N: **Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound**:. *Food Chemistry* 2006, 97: 4. 654-660.

48. Vaher M, Matso K, Levandi T, Helmja K, Kaljurand M: **Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties:.** *Procedia Chemistry* 2010, 2: 76-82.
49. Ugaz, OL. Investigacion Fitoquimica: **Pontificia Universidad Cattolica del Peru, Lima-Fondo:.** *Editorial* 1994.
50. Dias AS, Lima ACB, Santos ALML, Rabelo TK, Serafini MR, Andrade CR, Fernandes XA, Moreira JCF, Gelain DP, Estevam CS, Araujo BS: **Redox properties of Abarema cochliacarpus (Gomes) Barneby & Griseb (Fabaceae) stem bark ethanol extract and fractions:.** *Formerly Natural Product Letters* 2012, 7, 22083.
51. Van Acker SA, Van den Berg DJ, Tromp MN, Griffioen DH, van Bennekom WP, van der Vijgh WJ, Bast A: **Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids:.** *Free Radical Biology and Medicine* 1996 v. 20, p. 331-342.
52. Dai J, Mumper RJ: **Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties:.** *Molecules* 2010, 15: 7313-7352.
53. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N: **Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids:.** *Fitoterapia* 2011, 82: 4, 513-523.
54. Li, HB, Wong CC, Cheng KW, Chen F: **Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants:.** *Food Science and Technology* 2008, 41: 3, 385-390.
55. Melo JG, Araújo TAS, Castro VTNA, Cabral DLV, Rodrigues MD, Nascimento, SC, Amorim ELC, Albuquerque UP: **Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil:.** *Molecules* 2010, 15: 12, 8534-8542.
56. Moritani T, DE Vries HÁ: **Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain:.** *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 2002, 58: 115-130.
57. Silva LCN, Silva Júnior CA, Souza RM, Macedo AJ, Silva MV, Correia MTS: **Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of Anadenanthera colubrina, Libidibia ferrea and Pityrocarpa moniliformis fruits:.** *Food and Chemical Toxicology* 2011, 49: 9, 2222-2228.
58. Rêgo Júnior NO, Fernandez LG; Castro RD, Silva LC, Gualberto AS, Pereira, MLA: **Bioactive compounds and antioxidant activity of crude extracts of brushwood vegetable species:.** *Brazilian Journal of Food Technology* 2011, 14: 1, 50-57.
59. Araujo SS, Mesquita TRR, Santos RM, Oliveira JEL, Alves ARA: **Anthropometric, Functional, and Metabolic Profiles of Soccer Players:.** *Journal of Exercise Physiology online* 2012, 15: 6.
60. Balogh N: **Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise:.** *Veterinary Clinical Pathology*. 2001, v. 30, n.4, p.214-218.

61. Clarkson PM, Hubal ML: **Exercise Induced Muscle Damage in Humans:.** *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 2002, (Suppl, 11), 52-69.
62. Tee JC, Bosch AN, Lambert MI: **Metabolic consequences of exercise - induced muscle damage:.** *Sports Medicine* 2007, 10: 827-836.
63. Nottle C, Nosaka K: **The magnitude of muscle damage induced by downhill backward walking:.** *Journal of Science and Medicine in Sport* 2005, 3: 264-273.
64. Aguiló A, Tauler P, Fuentespina E, Tur JA, Cordova A, Pons A: **Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise:.** *Physiology & Behavior* 2005, 84: 1 –7.
65. Mastaloudis A, Yu TW, O'Donnell RP, Frei B, Dashwood RH, Traber MG: **Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay:.** *Free Radic Biol Med* 2004, 36: 8, 966-975.
66. Öztürk R, Ayar-Kayali H, Tarhan L: **Characterization of the antioxidant properties of seeds and skins in selected Turkish grapes:.** *Asian J Chem* 2008, 20: 5, 50–62.
67. Tongul B, Tarhan L: **The effect of menadione-induced oxidative stress on the in vivo reactive oxygen species and antioxidant response system of Phanerochaete chrysosporium:.** *Process Biochemistry* 2014,49: 195–202.
68. Kerksick CM, Kreider RB, Willoughby DS: **Intramuscular adaptations to eccentric exercise and antioxidant supplementation:.** *Amino Acids* 2010, 39: 219–232.
69. Watson TA, Callister R, Taylor RD, Sibbritt DW, MacDonald-Wicks LK, Garg ML: **Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise:.** *Med Sci Sports Exerc* 2005, 37: 2, 63-71.

V – CONCLUSÃO

De acordo com os dados apresentados no presente trabalho, demonstramos que existe uma correlação significativa entre o elevado conteúdo fenólico e a atividade antioxidante detectada no EHE de *B. Virgilioides*.

Assim O EHE da *B. Virgilioides* é capaz de proteger estruturas teciduais contra os danos oxidativos produzidos pelo organismo, como também foi capaz de prevenir lesão tecidual em ratos induzidos ao estresse oxidativo através do exercício físico resistido de alta intensidade.

VI - REFERÊNCIAS

- ADAM BO, FANELLI C, SOUZA ÉS, STULBACH TE, MONOMI PY. Conhecimento nutricional de praticantes de musculação de uma academia da cidade de São Paulo. *Brazilian Journal of Sports Nutrition* Vol. 2, No. 2, 2013, 24–36.
- AYRES MCC, CHAVES MH. Constituintes químicos e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. *Quimica Nova*, v. 32, n. 6, p. 1509-1512, 2009.
- ALBUQUERQUE KS, GUIMARÃES RM. Comportamento fisiológico de sementes de *Bowdichia virgilioides* Kunth. sob diferentes temperaturas e condições de luz. *Cerne*, v. 13, n. 1, p. 64-70, 2007.
- ALBUQUERQUE UP, RAMOS MA, MELO JG. New strategies for drug discovery in tropical forests based on ethnobotanical and chemical ecological studies. *Journal of Ethnopharmacology* 2012,v. 140, p. 197-201.
- ALMEIDA CFCBR, AMORIM ELC, ALBUQUERQUE UP, MAIA MBS. Medicinal plants popularly used in the Xingó region – a semi-arid location in Northeastern Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 2, n. 15, p. 1-7, 2006.
- ARCEGO DM, KROLOW R, LAMPERT C, NOSCHANG C, FERREIRA AGK, SCHERER E, WYSE ATS, DALMAZ C. Isolation during the prepubertal period associated with chronic access to palatable diets: Effects on plasma lipid profile and liver oxidative stress. *Physiology & Behavior* 2014, 124, 23–32.
- ARENT SM, SENSO M, GOLEM DL, MCKEEVER KH. The effects of the a flavin-enriched black tea extract on muscle soreness, oxidative stress, inflammation, and endocrine responses to acute anaerobic interval training: a randomized, double-blind, crossover study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2010 p. 1-10.
- ARRIAGA AMC, GOMES G A, BRAZ-FILHO R. Constituents of *Bowdichia virgilioides*. *Fitoterapia* 2000 v. 71, n.2, p. 211-212.
- AZEVEDO PHSM, DEMAMPRA TH, OLIVEIRA GP, BALDISSERA V, BÜRGER-MENDONÇA M, MARQUES AT, OLIVEIRA JC, PEREZ SE. A. Efeito de 4 semanas de treinamento resistido de alta intensidade e baixo volume na força máxima, endurance muscular e composição corporal de mulheres moderadamente treinadas. *Brazilian Journal of Biomotricity* 2007.v. 1, n. 3, p. 76-85.
- BACURAU RFP, ROSA LFBPC. Produção de espécies reativas de oxigênio durante a atividade física. In: LANCHI JR, A.H. *Nutrição e Metabolismo Aplicado à Atividade Motora*. São Paulo: Atheneu. 2004. p.151-153.
- BARROS WM, RAO VSN, SILVA RM, LIMA JCS, MARTINS DT. O. Anti-inflammatory effect of the ethanolic extract from *Bowdichia virgilioides* H.B.K stem bark. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2010 v. 82, n. 3, p. 609-616.

BARREIROS ALBS, DAVID JM. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* 2006, v. 29, n.1, p. 113-123.

BARBOSA-FILHO JM. Quimiodiversidade e potencialidade farmacológica da flora paraibana. *Caderno de Farmácia* 1997, v. 13, n. 2, p. 85-102.

BENZI G. Aerobic performance and oxygen free radicals. *The J. Sports Med. Physical Fitness*.1993.33:205-222.

BIANCHI MLP, ANTUNES LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição* 1999, v. 12, n. 2, p. 123-130.

BORGES GA, ARAÚJO FM, CUNHA S. Os benefícios do treinamento resistido para portadores de diabetes mellitus tipo II. *Lecturas Educación Física y Deportes*. 2010.v. 15, p. 1-1.

BUTTERFIELD TA, BEST TM, MERRICK MA. The dual roles of neutrophils and macrophages on inflammation: a critical balance between tissue damage and repair. *J Athletic Training* 2006 414:457-465.

BLOOMER RJ, GOLDFARB AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol*. 2004;29 :245-63.

BLOOMER R, GOLDFARB A, MCKENZIE M YOU T, NGUYEN L. Effects ofAntioxidant Therapy in Women Exposed to Eccentric Exercise. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism* 2006, 14, 4, 377-388.

BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 1995,v. 28, n.1, p. 25-30.

CÂMARA LC, SANTARÉM JM, WOLOSKE N, DIAS RMR. Exercícios resistidos terapêuticos para indivíduos com doença arterial obstrutiva periférica: evidências para a prescrição. *J Vasc Bras* 2007;6(3):247-257.

CASPERSEN CJ, POWELL KF, CHRISTENSON GM. Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* 1985; 100:126-31.

CARPES ST. Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellífera* L. da região Sul do Brasil. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008. 255 f.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Química Nova*. 2007, v. 30, n. 2, p. 441-449.

CIOLAC EG, GUIMARÃES GV. Physical exercise and metabolic syndrome. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte (Impresso)*, Niterói, v. 10, n. 4, p. 319-324, 2004.

CASTRO DLL. *Aspectos toxicológicos das plantas medicinais utilizadas no Brasil: um enfoque qualitativo no Distrito Federal*. Monografia (Especialização em Qualidade de Alimentos) – Universidade de Brasília, Brasília, 2006. 63 f.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2000,v. 33, n. 2, p. 179-189.

CLARKSON PM, THOMPSON HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 72. 637S–46S.

CRUZAT VF, ROGERO MM, BORGES MC, TIRAPGUI J. Current aspects about oxidative stress, physical exercise and supplementation. *Rev Bras Med Esporte*, 200713(5): 336-342.

DIAS R, FROLLINI AB, PRESTES J, TEIXEIRA LFM, CEREJA DMP, BAGANHA RJ *et al.* Exercícios de força e parâmetros imunológicos: contagem leucocitária, inflamação e regeneração. *R. bras. Ci. e Mov* 2008;16,3:100-107

DOLINSKY M. *Nutrição funcional*. São Paulo: Roca, 2009.

DEHARO E, BOURDY G, QUENEVO C, MUNÕZ V, RUIZ G, SAUVAIN M A. Search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001 v. 77, n. 1, p. 91–98.

EVANS WJ. Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr*, 2000. 72, 647S–652S.

EFRAIM P, ALVES AB, JARDIM DCP. Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. *Braz. J. Food Technol.*, Campinas. 2011, v. 14, n. 3, p. 181-201.

FAIAL CSG, DA SILVA LJF, DE PAULA ARJ, SIMÃO R, SPINETI J, MORAES ER. A Composição de Fibras Musculares pelo Teste de Potência Flegner em Corredores Fundistas, Meio-Fundistas e Velocistas. *Fit Perf J.* 2007;6,5: 321- 334.

FERREIRA ALA, MATSUBARA LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 1997. 43,1:61-68.

FERREIRA F, DUARTE FR, ALBERTO J. Stress oxidativo e dano oxidativo muscular esquelético: influência do exercício agudo inabitual e do treino físico. *Rev. Port. Cien. Desp.*[online]. 2007, vol.7, n.2, pp. 257-275.

FERREIRA N, SILVA MN, GENESTRA M. Promoção da Saúde com Ênfase na Atividade Física e Alimentação Saudável. Cadernos UniFOA - Edição Especial - agosto 2009.

FOGLIO MA, QUEIROGA CM, SOUSA IMO, RODRIGUES RAF. Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. Multiciência 2006 n. 7.

FOSS ML, KETHEYIAN JS. Fox's Physiological basis for exercise and sport. McGraw-hill, 1998.

FONTOURA H, ASSUMPÇÃO L, MORAES P. Relação entre atividade física, saúde e qualidade de vida. Notas introdutórias. Lecturas Educación Física y Deportes, v. 8, n. 52, set. 2002. Disponível em: <<http://www.efdeportes.com/efd52/saude.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2014.

FORJAZ CLM, REZK CC, MELO CM, SANTOS DA, TEIXEIRA L A, NERY SS, TINUCCI T. Exercício resistido para o paciente hipertenso: indicação ou contra-indicação. Revista brasileira de hipertensão. 2003. v. 10, n. 2, p. 119-124.

FOSCHINI D, PRESTES J, CHARRO MA. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. Rev Bras Cineantropom Desempenho Humano. 2007; 9(1): 101-106.

FINAUD J, LAC G, FILAIRE E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. Sports Med. 2006, 36:327-58.

FREISLEBEN HJ. Lipoate ameliorates ischemia-reperfusion in animal models. Clin Hemorheol Microcirc. 2000;23(2-4):219-24

GOMES ECS, BARBOSA J, VILAR FCR, PEREZ JO, RAMALHO RC. Plantas da caatinga de uso terapêutico: levantamento etnobotânico. *Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia* 2008, v. 5, n. 2, p. 74-85.

GONÇALVES A, VILARTA, R. Qualidade de vida e atividade física: explorando teoria e prática: Barueri: Manole, 2004.

GRAVES JE, FRANKLIN BA. Treinamento Resistido na Saúde e Reabilitação. Rio de Janeiro: Revinter, 2007.

GROUSSARD C, MACHEFER G, RANNOU F, FAURE H, ZOUHAL H, SERGENT O, et al. A. Physical fitness and plasma non-enzymatic antioxidant status at rest and after a Wingate test. Can J Appl Physiol. 2003;28:79-92.

GROUSSARD C, RANNOU-BEKONO F, MACHEFER G, CHEVANNE M, VINCENT S, SERGENT O, et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 2003;89(1):14-20.

HALLIWELL B, GUITTERIDGE JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 3. ed. New York: Oxford Science Publications, 2000.

HAWKE TJ. Muscle stem cell and exercise training. *Exerc Sport Sci Rev*. 2005, 33,2: 63-68.

HOFFMAN JR, RATAMESS NA, KANG J, RASHTI SL, KELLY N, GONZALEZ AM, STEC M, ANDERSON S, BAILEY BL, YAMAMOTO LM, HOM LL, KUPCHAK BR, FAIGENBAUM AD, MARESH CM. Examination of the efficacy of acute L-alanyl-L-glutamine ingestion during hydration stress in endurance exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2010, p. 1-12.

JI LL. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. *Ann NY Acad Sci*. 2002; 959:82-92.

JORGE RT, SOUZA MC, JONES A, JÚNIOR IL, JENNINGS F, NATOUR J. Treinamento resistido progressivo nas doenças Musculo esqueléticas crônicas. *Rev Bras Reumatol* 2009;49,6:726-34.

KANEGAE MF, BRAZ VS, FRANCO AC. Efeitos da seca sazonal e disponibilidade de luz na sobrevivência e crescimento de *Bowdichia virgilioides* em duas fitofisionomias típicas dos cerrados do Brasil Central. *Revista Brasileira de Botânica*, 2000, v. 23, n. 4, p. 459-468.

KELLEY GA, KELLEY KS. Progressive resistance exercise and resting blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension*. 2000; 35:838-43.

KIERSZENBAUM AL. Histologia e biologia celular. Uma introdução à patologia. New York. Elsevier Editora Ltda. 2004.

KOURY, J.C.; DONANGELO, C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Rev. Nutr*. 2003. 16(4):433-441.

LANCHA JR AH. Nutrição e Metabolismo Aplicado à Atividade Motora. São Paulo: Atheneu, 2004, p. 151-153.

LAKKA TA, LAAKSONEM DE, LAAKA HM, MÄNNIKÖ N, NISKANEN LK, RAUMRAMA.A R. Sedentary life style, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Med Sci Sports Exerc* 2003, 35:12, 79-86

LIMA CA. Atividade redox-protetora da *passiflora cincinnata* mast sobre o estresse oxidativo induzido pelo exercício físico. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade Federal de Sergipe 2011.

LIMA FO, BEZERRA AS. Flavonoides e radicais livres. *Ciências Naturais e Tecnológicas*, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 111-124, 2012.

LEE SJ, BOOTH FW. Physical inactivity is a disease. *World Rev Nutr Diet*. 2005. 95: 73-79.

LEITE HP, SARNI RS. Radicais livres, anti-oxidantes e nutrição. Rev. Brás. Nutr. Clin., 2003. 18(2): 87-94.

LOWENSTEIN JM. The purine nucleotide cycle revised. J. Sports Med. 1990. 11:S37-S46.

LUKASKI HC. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. Nutrition. 2004. 20(7-8) : 632-44.

MACIEL MAM, PINTO AC, VEIGA JR VF. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Química Nova, 2002,v. 25, n. 3, p. 429-438.

MACHEFER G, GROUSSARD C, RANNOU-BEKONO F, ZOUHAL H, FAURE H: Competição de duração extrema capacidade diminui Sangue Antioxidante Defesa. *J Am Coll Nutr* 2004, 23 : 358-364.

MARÇAL AC, PEROTTI L, DEFANI MA, VISCOVINI RC. Levamento etnobotânico das plantas utilizadas pela população de Goioerê-PR. Arq. Ciênc. Saúde Unipar, 2003, 7,1:21-26.

MARIATH, I. R.; FALCÃO, H. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SOUSA, L. C. F.; TOMAZ, A. C. A.; BATISTA, L. M.; DINIZ, M. F. F. M.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L. Plants of the American continent with antimalarial activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2009,v. 19, n. 1, p. 158-192

MCARDLE A, PATTWELL A, VASILAKI A, GRIFFITHS RD, JACKSON MJ. Contractile activity induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;280: C621-7

MCANULTY SR, MCANULTY LS, NIEMAN DC, DUMKE CL, MORROW JD, UTTER AC, HENSON DA, PROULX WR, GEORGE GL. Consumption of blueberry polyphenols reduces exercise-induced oxidative stress compared to vitamin C. *Nutr. Res*. 2004. 24:209-221

MENDES, B. et al. Associação de fatores de risco para doenças cardiovasculares em adolescentes e seus pais. *Revista Brasileira de Saúde Materna Infantil*. V.6, supl. 1, Recife, maio, 2006.

MOSCARDINI F, BARBOSA EH, GARCIA EF, BORGES APO, BACHUR JA, QUEMELO PRV. Efeito da cinesioterapia na lesão isquêmica e reperfusão em ratos. *Acta Ortop Bras*. 2012;20(3): 131-5.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2009, v. 19, n. 1, p. 315-320.

MORAES AJP, ORNELLAS FH, GONÇALVES MA, BECKER AM, CAVALCANTE LS, CASAGRANDE FS, EL, MARTINS WF, SCHVEITZER V, PINHO RA, BENETTI M. Efeito agudo de nac sobre marcadores de dano tecidual em atletas de voleibol. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*, São Paulo, v.6, n.32, p.85-89. Mar/Abr. 2012

MUNN, J.; HERBERT, R. D.; HANCOCK, M. J.; GANDEVIA, S. C. Resistance training for strength: effect of number of sets and contraction speed. *Med SciSports Exerc.* 2005, v. 37, n. 9, p. 1622-1626.

MINAMOTO VB. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. *Fisioterapia e pesquisa* 2005; 12(3): 50-58.

MICHAEL J et al. Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats.. *Experimental Gerontology*, 2010. 45, 882–895.

MORILLAS-RUIZ, J.M.; VILLEGAS, G.J.A.; LÓPEZ, F.J.; VIDAL-GUEVARA, M.L.; ZAFRILLA, P. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clinical Nutrition* 2006. 25: 444–453.

OGONOVSKY H, SASVÁRI M, DOSEK A, BERKES I, 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. *Can J Appl Physiol.* 2005.30,2: 186-195.

PETRY ÉR, ALVARENGA ML, CRUZAT VF, TIRAPEGUI J. Exercício físico e estresse oxidativo: mecanismos e efeitos. *R. bras. Ci. e Mov* 2010;18,4:90-99.

POLLACK M, LEEUWENBURGH C. “Molecular mechanisms of oxidative stress in aging: Free radicals, aging, antioxidants and disease,” in C. K. Sen, L. Packer, and O. Hanninen (eds.), *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam: Elsevier Science B.V. 1999, pp. 881–923.

POWERS S, HOWLEY E. *Exercise Physiology: Theory and Application to Fitness and Performance*. 2001. Fourth Ed., McGraw Hill, New York.

POWERS S, LEEUWENBURGH C. Exercise training induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc.*1999. 31(7): 987-997.

RODRIGUES ÉL. O efeito da suplementação de vitaminas antioxidantes no equilíbrio pró e antioxidante de ratos submetidos ao treinamento de natação a 80% da carga máxima. *Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)* – São José dos Campos:UniVap.2005. 92p.

RINNE, T., MUTSCHLER, E. WIMMER-GREINECKER, G., MORITZ, A., OLBRICH, H.G. Vitamins C and E protect isolated cardiomyocytes against oxidative damage. *Int. J.Cardiol.* 2000.75, 275–281.

ROJAS, R.; RIBBON, R. Guilda de aves em *Bowdichia virgilioides* (Fabaceae: Faboideae) em área de cerrado de Furnas, Minas Gerais. *Ararajuba*, 1997, v. 5, n. 2, p. 189-194.

SANTANA ALDB, MARANHÃO CA, SANTOS JC, CUNHA FM, CONCEIÇÃO G M, BIEBER LW, NASCIMENTO MS. Antitermitic activity of extractives from three Brazilian hardwoods against *Nasutitermes corniger*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2010, v. 64, n. 1, p. 7-12.

SAMPAIO LSV, PEIXOTO CP, PEIXOTO MFSP, COSTA JÁ, GARRIDO MS, MENDES LN. Ácido sulfúrico na superação da dormência de sementes de Sucupira-preta (*bowdichia virgilioides* h.b.k. - fabaceae). *Revista Brasileira de Sementes*, 2001, v. 23, n. 1, p.184-190.

SAXTON JM, CLAXTON D, WINTER E, POCKLEY G. Peripheral blood leucocyte functional responses to acute eccentric exercise in humans are influenced by systemic stress, but not by exercise-induced muscle damage. *Clin Sci (Lond)*. 2003; 104(1): 69-77.

SANTOS HS, CRUZ WMS. A terapia nutricional com vitaminas antioxidantes e o tratamento quimioterápico e oncológico. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 2001, 47(3): 303-08.

SEN CK. Antioxidants in Exercise Nutrition. *Sports Medicine*. 2001,31,13:891-908.

SENTURK UK, YALCIN FG, KURU O, MEISELMAN HJ, BASKURT OK. Effect of antioxidant vitamin treatment on the time course of hematological and hemorheological alterations after an exhausting exercise episode in human subjects. *Journal of Applied Physiology*. 2005, p. 1272-1279.

SILVA MLC, COSTA RS, SANTANA AS, KOBLITZ MGB. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Ciências Agrárias*, 2010-a, v. 31, p. 669-682.

SILVA J P, RODARTE RS, CALHEIROS AS, SOUZA CZ, AMENDOEIRA FC, MARTINS M. A, SILVA PM, FRUTUOSO VS, BARRETO E. Antinociceptive Activity of Aqueous Extract of *Bowdichia virgilioides* in Mice. *Journal of Medicinal Food* 2010-b, v. 13, n. 2, p. 348-351.

SILVA LCN, SILVA JÚNIOR CA, SOUZA RM, MACEDO AJ, SILVA MV, CORREIA MTS. Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. *Food and Cheicalm Toxicology*, 2011-b, v. 49, n. 9, p. 2222-2228.

SILVA MIG, MELO CTV, VASCONCELOS LF, CARVALHO AMR, SOUSA FCF. Bioactivity and potential therapeutic benefits of some medicinal plants from the Caatinga (semi-arid) vegetation of Northeast Brazil: a review of the literature. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2012, v. 22, n. 1, p. 193-207.

SILVA JN, BEIRÃO T, FILIPE P, FERNANDES A. Efeito de flavonóides no stresse oxidante e foto-oxidante no eritrócito humano. *Boletim da SPM*, 2006 v. 21, n. 1, p. 6-28.

SILVA EG, BEHR GA, ZANOTTO-FILHO A, LORENZI R, PASQUALI MA, RAVAZOLO LG, BORDIGNON CL JR, SILVA FA, ABOY AL, BASSANI VL, HENRIQUES AT, REGINATTO FH, DAL-PIZZOL F, MOREIRA JC. Antioxidant activities and free radical scavenging potential of *Bauhinia microstachya* (raddi) MACBR. (Caesalpinaceae) extracts linked to their polyphenol content. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2007.v 30, n. 8, p. 1488-1496.

SIGNORINI, J.L.; SIGNORINI, S.L. Atividade física e radicais livres: aspectos biológicos, químicos, fisiopatológicos e preventivos. São Paulo: Ícone. 1995. 192p

SILVEIRA LR. Considerações Críticas e Metodológicas na Determinação de Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio em Células Musculares Durante Contrações. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2004. 48(6):812-822.

SOUZA CF, FERNANDES LC, CYRINO ES. Produção de espécies reativas de oxigênio durante o exercício aeróbio e anaeróbio. *Rev. Bras.Cineantropom. Desempenho Hum*. 2006;8(2):102-109.

SOUZA JR, T.P; OLIVEIRA, P.R.; PEREIRA, B. Exercício físico e estresse oxidativo: efeitos do exercício físico sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. *Rev Bras Med Esporte*; 11(1):91-96; 2005.

SCHEIBMEIR, HD; CHRISTENSEN, K; WHITAKER, SH.; JEGAETHESAN, J.; CLANCY, R.; PIERCE, J. D. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*. 2005.v. 21, p. 24-28.

SMIDERLE, O. J.; SOUSA, R. C. P. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth - FABACEAE - PAPILIONIDAE). *Revista Brasileira de Sementes*, 2003, v. 25, n. 2, p. 48-52.

STUPKA N, LOWTHER S, CHORNEYKO K, BOURGEOIS M, HOGBEN C, TARNOPOLSKY MA. Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise. *J Appl Physiol*. 2000; 89, 6: 2325-2332.

OLSZEWER E. Microscopia óptica como método de medida de radicais livres: análise celular "in vitro"- HBL. 2001. 2ª ed. São Paulo: Ícone.

PANZA VS, WAZLAWIK E, SCHÜTZ RG, COMIN L, HECHT KC, SILVA EL. Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men. *Nutrition* 2008, 24 5:433-42.

PRESTES J, FERREIRA CKO, FROLLINI AB, DIAS R, DONATTO FF, GUERESCHI MG, PALANCH AC, PEREZ SEA, CAVAGLIERI CR. Influência do exercício físico agudo realizado até a exaustão sobre o número de leucócitos, linfócitos e citocinas circulantes. *Fit Perf J*; 2007;16,1:32-37.

TODO-BOM A, PINTO AM. Exercício físico: resposta imunoinflamatória. *Rev Port Imunoalergologia*, 2007,15,2:123-133.

THOMAZZI SM, SILVA CB, SILVEIRA DR, VASCONCELLOS CLC, LIRA A F, CAMBUI EVF, ESTEVAM CS, ANTONIOLLI AR. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bowdichia virgilioides* (sucupira). *Journal of Ethnopharmacology*, 2010,v. 127, n. 2, p. 451–456.

TRUGILHO PF, CAIXETA RP, LIMA JT, MENDES LM. Avaliação do conteúdo em taninos condensados de algumas espécies típicas do cerrado mineiro. *Revista Cerne*, 1997,v. 3, n. 1, p. 1-13.

URSO ML, CLARKSON PM. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology*; 2003,189 (1-2):41-54.

VANCINI RL, LIRA CAB, ABOULAFIA J, NOUAILHETAS VLA. Influência do exercício sobre a produção de radicais livres. *Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde*. 2005 v.10. n. 2. 47-58.

VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL JAN, CRONIN MTD, MAZUR M, TELSER J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007.v. 39, p. 44-84

VIERCK J, O'REILLYA B, HOSSNERB K, ANTONIO C J, BYRNEAD K, BUCCIE L, DODSON M. Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. *Cell Biol Int*. 2000; 24(5): 263-272.

VEIGAS JRC, PINTO AC. Plantas medicinais: cura segura? *Quimica Nova*, 2005, v. 28; n. 3, 519-528.

VIEGAS JRC, BOLZANI VS. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quimica Nova*, 2006, v. 29, n. 2, 326-337.

VEITCH NC. Isoflavonoids of the Leguminosae. *Natural Product Reports*, 2009, v. 26, p. 776–802.

YU BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Ver*. 1994, v. 74, n.1, p. 139-162.

WOLLGAST J, ANKLAN E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, Essex, 2000.v. 33, n. 6, p. 449-459.

ZAMAI CA, BANKOFF ADP. Nível de atividade física e indicadores de qualidade de vida de colaboradores da Unicamp: Análise através do Programa Mexa-se Unicamp XI Simposio Nordestino de Atividade Física & Saúde, 2010, Aracaju - Sergipe. XI Simposio Nordestino de Atividade Física & Saúde: da evidencia a intervenção. Aracaju - Sergipe:UFS, 2010.

ZIMMERMANN AM, KIRSTEN VR. Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: uma abordagem clínica. Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria. 2008 v. 9, n. 1, p. 51-68.

VII - ANEXO

Artigo 1

T. M. A. Rodrigues ; R. E. A. Dantas ; D. M. Santos ; J. P. G. Camporez ; R. A. P.-Garcia ; ESTEVAN, C. S. ; SANTOS, J. L. ; M. J. C. Costa ; F. B. Lima ; D. N. Souza ; Marçal, A.C. . Prevalence of hip and lower limb fracture in the city of Aracaju, Brazil. Scientia Plena, v. 08, p. v. 8, n. 5 2012, 2012.

Artigo 2

De Sousa R. A. L ; SANTOS, J. L. ; F. B. Lima ; Marçal, A.C. . Aspectos Éticos em Animais de Laboratório e os Principais Modelos Utilizados em Ensaio Científicos. Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório, v. 2, p. 147-154, 2013.

Artigo 3

MENESES-SANTOS, D. ; LIMA, D. B. ; AIRES, M. B. ; R. E. A. Dantas ; ESTEVAN, C. S. ; SANTOS, J. L. ; Marçal, A.C. . Concept of adolescents of Northeastern Brazil regarding the quality of life in patients with Diabetes Mellitus. Comprehensive Research Journal of Biological Science, v. 2, p. 011-017-017, 2014.