



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ELIZABETE SILVA FILHA

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DA FOLHA DE
Erythroxylum mucronatum (Benth.) ASSOCIADA AO TREINAMENTO DE FORÇA
NA MELHORA DO DESEMPENHO FÍSICO DE RATOS**

**ARACAJU
2018**

ELIZABETE SILVA FILHA

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DA FOLHA DE
Erythroxylum mucronatum (Benth.) ASSOCIADA AO TREINAMENTO DE FORÇA
NA MELHORA DO DESEMPENHO FÍSICO DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe
como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Lucindo José Quintans Júnior

**ARACAJU
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S586e Silva Filha, Elizabete
Avaliação da suplementação com extrato da folha de *Erythroxylum mucronatum* (Benth.) associada ao treinamento de força na melhora de desempenho físico de ratos / Elizabete Silva Filha ; Orientador Lucindo José Quintans Júnior. – Aracaju, 2018.
59 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Plantas Medicinais. 2. Erythroxylaceae. 3. Desempenho Atlético. 4. Suplementos Nutricionais. I. Quintans Júnior, Lucindo José, orient. II. Título.

CDU 61

ELIZABETE SIVA FILHA

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DA FOLHA DE
Erythroxylum mucronatum (Benth.) ASSOCIADA AO TREINAMENTO DE FORÇA
NA MELHORA DO DESEMPENHO FÍSICO DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe
como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em
Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

Presidente: Dr. Lucindo José Quintans Júnior

1º Examinador: Dra. Thallita Kelly Rabelo

2º Examinador: Dr. Robervan Vidal dos Santos

A minha mãe, Elizabete por todo amor, compreensão e apoio nas minhas escolhas em todos os momentos da minha vida. Te amo!

Ao meu filho, Matheus, que é meu porto seguro sempre cheio de carinho amor e alegria. É por você que busco sempre o melhor de mim. Te amo muito!!

Ao meu marido, Fabricio por toda ajuda, apoio e carinho. Você é muito especial. Te amo!

“Determinação, coragem e auto-confiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.”

Dalai Lama

Agradecimentos

A Deus, pela infinita generosidade e sempre abençoar e iluminar minha vida;

Ao meu orientador Prof. Dr. Lucindo Quintans Junior, pela disponibilidade e confiança, exemplo de profissional que inspira a busca pelo meu melhor cada dia;

A minha família e amigos que sempre apoiaram as minhas escolhas;

A prof^a Dra. Ana Mara, por todos os ensinamentos e orientação;

A prof^a Dra. Julliana Quintans, sempre preocupada, prestativa e acolhedora;

Ao prof. Dr. Marcio Roberto Viana dos Santos, por abrir as portas do seu laboratório (LAFAC) para realização dos meus experimentos;

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS), na pessoa do coordenador Prof. Dr. Ricardo Queiroz Gurgel;

A família LAFAC/LANEF, em especial a Patrícia, Cácia, João, Danilo, Gil e Sarah;

As entidades de fomento à pesquisa no Brasil: CAPES, CNPq e a Universidade Federal de Sergipe.

RESUMO

Efeitos da suplementação com extrato etanólico das folhas de *Erythroxylum mucronatum* (benth.) durante um período de treinamento de força sobre o desempenho físico de ratos. Elizabeth Silva Filha. 2018

A prática regular de atividade físicas e a adoção de uma dieta que supra todas as necessidades metabólicas do indivíduo, são fatores chave para um bom desempenho físico. A utilização de produtos naturais para este fim já é descrita na literatura, principalmente pelo efeito antioxidante destas substâncias. A *Erythroxylum mucronatum* (EM) pertence à família *Erythroxylaceae*, conhecida pelas grandes concentrações de flavonoides e alcaloides, compostos estes caracterizados como antioxidantes. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação a base do extrato etanólico de EM (EEM) na melhoria do desempenho físico de ratos submetidos ao treinamento de força. Para tal, foram utilizados 40 ratos Wistar (250-300g), divididos em 4 grupos: Grupo Controle (GC), Treinado (GT), Treinado + EEM 50mg/kg (GTEM50), Treinado + EEM 150 mg/kg (GTEM150). Os animais treinados foram submetidos ao treinamento de força por 4 semanas, 5x por semana, com volume de 3 séries com 10 repetições e intensidade 60% de uma repetição máxima (1RM), o GC passou por um treinamento fictício. O peso corporal foi acompanhado semanalmente e a cada 15 dias os animais passavam por testes no rota-rod, grip strength e 1RM. Ao término das 4 semanas de treinamento, a gordura perigonadal, retroperitoneal, os músculos plantares (MP) e sangue foram coletados. Após pesado, o MP foi utilizado para avaliar a peroxidação lipídica (TBARS) e a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). O sangue foi utilizado para aferição dos níveis das enzimas alanina (ALT) e aspartato (AST) aminotransferase, marcadoras bioquímicas de danos hepáticos e concentração das enzimas creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH). Por fim, foi realizado o teste de resistência muscular e medidas de glicemia (jejum, pré, pós e 15' pós-teste) e lactato (pré, pós e 15' pós-teste). Inicialmente, identificamos o teor de compostos fenólicos totais ($213,29 \pm 5,58\text{mg}$) e de flavonoides totais ($355,73 \pm 7,74\text{mg}$) do EEM. Após 4 semanas de treinamento, o GTEM150 possuía menor peso corporal quando comparado ao GC, além disso, os GTEM50 e 150 apresentaram menor quantidade de gordura quando comparados ao GC e GT. Todos os grupos apresentaram maior peso do MP quando comparados ao GC. No rota-rod, o GTEM150 apresentou melhor desempenho no trigésimo dia quando comparado ao GC. No grip strength os grupos GTEM50 e 150 apresentaram uma melhor performance já no décimo quinto dia quando comparados ao GC e no trigésimo dias todos os grupos foram superiores ao GC, além disso, o GTEM150 esteve superior que o GT e GTEM50 neste mesmo dia. No 1RM, no décimo quinto dia todos os grupos obtiveram resultados superiores ao GC e no trigésimo dia o GTEM150 foi superior ao GT e GTEM50. Em relação ao teste de resistência muscular, observamos que todos os grupos foram superiores ao GC, entretanto, o GTEM150 foi também melhor que o GT e GTEM50. Além disso, o GTEM150 apresentou menor resposta hipoglicêmica durante e hiperglicêmica após o teste. Todos os grupos treinados apresentaram uma menor concentração de lactato pós-teste quando comparado ao GC e 15' pós-teste o GTEM50 se recuperou mais rápido que o GC e o GTEM150 que todos os grupos. No MP foi observado uma menor peroxidação lipídica em todos os grupos comparados ao GC e no GTEM150 comparado aos demais. Todos os grupos tiveram atividade da SOD aumentada quando comparado ao GC e o GTEM150 obteve maior atividade quando comparado ao GT e GTEM50. Ademais, GTEM150 apresentou menor concentração de CK e LDH no plasma quando comparado a todos os demais grupos. Por fim, não houve diferença nos níveis de concentração de ALT e AST. Em suma, nossos resultados apontam uma melhora do desempenho físico nos animais suplementados com EEM na dose de 150 mg/kg.

Descritores: Plantas Medicinais; Erythroxylaceae; Desempenho Atlético; Suplementos Nutricionais

ABSTRACT

Evaluation of the *Erythroxylum mucronatum* (benth.) leaf extract supplementation associated with a resistance training on enhance of physical performance of rats. Elizabete Silva Filha. 2018

A regular practice of physical activity and an adoption of a diet that supply the individual's metabolic needs are essential for good physical performance. The usage of natural products for this purpose is already described in the literature, mainly by the antioxidant effect. *Erythroxylum mucronatum* (EM) belongs to the family Erythroxylaceae, known for high concentrations of flavonoids and alkaloids, compounds that are characterized as antioxidants. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of supplementation based on the ethanolic extract of EM (EEM) in the improvement of the physical performance of rats submitted to strength training. 40 Wistar rats (250-300g), divided into 4 groups: Control Group (GC), Trained (GT), Trained + EEM 50mg / kg (GTEM50), Trained + EEM 150 mg / kg. The trained animals were submitted to strength training for 4 weeks, 5x per week, with a volume of 3 sets with 10 repetitions and intensity 60% of a maximal repetition (1RM), the GC underwent a fictitious training. The body weight was monitored weekly and every 15 days the animals passed through rota-rod, grip strength and 1RM tests. At the end of the 4 weeks of training, the perigonadal and retroperitoneal fat, plantar muscles (MP) and blood were collected. After weighing, the MP was used to evaluate a lipid peroxidation (TBARS) and activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD). Blood were used to measure the levels of alanine (ALT) and aspartate (AST) aminotransferase enzymes, biochemical markers of liver damage and concentration of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) enzymes. Finally, it was carried out the test of muscular resistance and measurements of glycemia (fast, pre, post and 15 ppp-test) and lactate (pre, post and 15 'post-test). Initially, it was identified the total phenolic compounds content ($213,29 \pm 5,58\text{mg}$) and total flavonoids ($355,73 \pm 7,74\text{mg}$) of the EEM. After 4 weeks of training, the GTEM150 had lower body weight when compared to the GC, in addition, GTEM50 and 150 presented lower amount of fat when compared to GC and GT. All groups presented higher weight of MP when compared to GC. On rota-rod, the GTEM150 showed better performance on the thirtieth day when compared to the GC. In grip strength test, the GTEM50 and 150 groups showed a better performance on the fifteenth day when compared to the GC and on the thirtieth day all the groups were superior to the GC, in addition, the GTEM150 was superior to GT and GTEM50 in the same day. In the 1RM, on the fifteenth day all groups obtained superior results to the GC and on the thirtieth day the GTEM150 was superior to the GT and GTEM50. Regarding the muscular endurance test, it observed that all groups were superior than GC, however, GTEM150 was also better than GT and GTEM50. In addition, the GTEM150 presented lower hypoglycemic response during- and hyperglycemic after- the test. All trained groups had a lower post-test lactate concentration when compared to GC and 15 'post-test the GTEM50 recovered faster than GC and GTEM150 than all groups. In the PM, a lower lipid peroxidation was observed in all groups compared to GC and GTEM150 compared to the others. All groups had increased SOD activity when compared to GC, and GTEM150 an increased activity when compared to GT and GTEM50. In addition, GTEM150 presented lower concentration of CK and LDH in the plasma when compared to all the other groups. Finally, there was no difference in ALT and AST concentration levels. In summary, our results point to an improvement on physical performance in animals supplemented with MEE at a dose of 150 mg / kg.

Key Words: Medicinal Plants; Erythroxylaceae; Athletic Performance; Nutritional Supplements

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição da família Erythroxylaceae no Mundo	5
Figura 2. Esquema do aparelho de agachamento.	13
Figura 3. Composição Corporal.	19
Figura 4. Teste de Rota-Rod.....	20
Figura 5. Teste de Grip-Strength	21
Figura 6. Teste de 1RM e Resistência Muscular e níveis de Glicemia e Lactato	22
Figura 7. Stress Oxidativo	23
Figura 8. Função hemodinâmica.	24
Figura 9. Funcionalidade Hepática.....	24
Figura 10. Marcadores de dano muscular.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais em EEB.....	17
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

1RM – Uma Repetição Máxima

ALT – Enzima Alanina Aminotransferase

AST – Enzima Aspartato Aminotransferase

CK – Enzima Creatina Quinase

EAG – Equivalente em Ácido Gálico

EC – Equivalente de Catequina

EEB – Extrato Etanólico Bruto

EEM – Extrato de *Erythroxylum mucronatum*

GC – Grupo Controle

GT – Grupo Treinado

GTEM150 - Grupo Treinado + Extrato de *Erythroxylum mucronatum* 150mg/kg

GTEM50 – Grupo Treinado + Extrato de *Erythroxylum mucronatum* 50mg/kg

LDH – Enzima Lactato Desidrogenase

SOD – Enzima Superóxido Dismutase

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Exercício, Nutrição e Suplementos	3
2.2 Produtos Naturais: Ênfase na família Erythroxylaceae	4
2.3 Flavonoides	6
2.4 Atividade Antioxidante	6
2.5 Antioxidantes x Desempenho Físico	8
3. OBJETIVOS	10
3.1 Geral	10
3.2 Específicos	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	11
4.1 Animais	11
4.2 Grupos Experimentais	11
4.3 Extração, processamento e obtenção do Extrato Etanólico Bruto da <i>Erythroxylum mucronatum</i> (Benth.)	11
4.4 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais	12
4.5 Determinação do teor de flavonoides totais	12
4.6 Suplementação com Extrato de <i>Erythroxylum mucronatum</i>	12
4.7 Protocolo de Treinamento Resistido	13
4.8 Avaliação da Composição Corporal	14
4.9 Desempenho Físico	14
4.9.1 Teste Motor em Rota-Rod	14
4.9.2 Teste de Força Muscular	15
4.9.3 Teste de Resistência Muscular	15
4.10 Stress Oxidativo	16
4.10.1 Peroxidação Lipídica	16
4.10.2 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)	16
4.11 Avaliação da Função Hemodinâmica	16
4.12 Avaliação da Funcionalidade Hepática	17
4.13 Avaliação do Dano Muscular	17
4.14 Análise Estatística	17
5. RESULTADOS	18

5.1	Determinação do teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais.....	18
5.2	Composição Corporal	18
5.3	Desempenho Físico	19
5.4	Stress Oxidativo	22
5.5	Função Hemodinâmica	23
5.6	Funcionalidade Hepática.....	24
5.7	Marcadores de Dano Muscular	25
6.	DISCUSSÃO	26
7.	CONCLUSÃO	33
8.	REFERÊNCIAS	34
9.	ANEXO A	46

1. INTRODUÇÃO

A prática regular de atividades físicas é uma importante etapa para a manutenção da saúde (KISNER; COLBY; BORSTAD, 2017). Ademais, para adoção de um estilo de vida saudável, é necessário a inclusão de uma dieta que seja capaz de suprir todas as necessidades metabólicas do indivíduo (DEER, 2014). Entretanto, devido as necessidades do cotidiano de trabalhos e atividades laborais, nem sempre as pessoas tem disponibilidade de se alimentarem adequadamente, dificultando assim o desempenho atlético durante a prática de exercícios físicos (HIRSCHBRUCH; FISBERG; MOCHIZUKI, 2008a).

Desta forma, o consumo de suplementos alimentares vem crescendo acentuadamente pela população em geral, principalmente pelas pessoas que buscam fins estéticos e de desempenho (PEREIRA; LAJOLO; HIRSCHBRUCH, 2003; HALLAK; FABRINI; PELUZIO, 2007; GOMES et al., 2008). Para suprir esta demanda, a indústria de suplementos tem inserido diversos tipos de produtos no mercado, dentre os principais, podemos citar: suplementos proteicos, vitamínicos, carboidratos de rápida absorção, *fatburners* - “queimadores de gordura”, isotônicos, entre outros (PEREIRA; LAJOLO; HIRSCHBRUCH, 2003).

Entretanto, vale ressaltar que a literatura é confusa acerca dos reais efeitos biológicos benéficos destes recursos ergogênicos no desempenho físico, uma vez que alguns estudos apontam melhorias de desempenho em usuários destas substâncias (COOMBES; HAMILTON, 2000; EVANS, 2000; CARRILHO, 2013), porém, alguns outros falharam em demonstrar quaisquer benefício na utilização destas substâncias (BALSOM et al., 1993; JENTJENS et al., 2001; ERSKINE et al., 2012). Sendo assim, a indústria de suplementos tem procurado novos compostos que sejam capazes de aumentar o desempenho atlético, mas que também fujam da rotulagem de produtos sintéticos.

Desta forma, alguns compostos extraídos de produtos naturais já foram testados e tiveram seus efeitos comprovados acerca do ganho de desempenho físico, principalmente de força muscular, a exemplo, podemos citar, a capsaicina (LIM et al., 1997), o ginseng (KIM et al., 2005), o ginkgo biloba (BLUME; KIESER; HÖLSCHER, 1996) e o mais utilizado entre os desportistas, a cafeína (GRAHAM, 2001). Diversos são os mecanismos postulados na tentativa de explicar os efeitos fisiológicos destes produtos naturais sobre o desempenho físico, no entanto, o mais sugerido é a capacidade antioxidante destes produtos (BING; ZHAOBAO, 2010; AMMAR et al., 2016; VIEIRA et al., 2017; AMMAR et al., 2017).

Diante deste panorama, identificamos no nordeste do Brasil a família Erythroxylaceae, caracterizada na literatura por ser rica em flavonoides e alcaloides, compostos estes descritos como antioxidantes (BOHM; PHILLIPS; GANDERS, 1981; JOHNSON; SCHMIDT, 2004; SALEH et al., 2012; SOUZA DE O et al., 2015). Dentre as espécies mais observadas no estado de Sergipe, observamos a presença acentuada da *Erythroxylum Mucronatum* (Benth.), conhecida popularmente como “cuminxá” ou “pimentinha”, principalmente na região da Serra de Itabaiana (Itabaiana, SE).

Desta forma, por esta espécie ser de fácil de acesso a população e fazer parte de uma família com importante potencial antioxidante, fica evidenciado o potencial uso do extrato de *Erythroxylum Mucronatum* (Benth.) com o intuito de promover uma melhoria no desempenho físico. Sendo assim, nossa hipótese é que a suplementação com o extrato de *Erythroxylum mucronatum* (Benth.) seja capaz de aumentar a atividade antioxidante nos animais treinados, permitindo assim haver uma melhoria no desempenho destes animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Exercício, Nutrição e Suplementos

Desde os primórdios o homem se preocupa com a sua estética e também com sua alimentação, com o intuito de promover um aumento no seu desempenho atlético (TOULSON, 2009). Desta forma, semelhante aos homens de antigamente, o homem contemporâneo busca aperfeiçoar o seu condicionamento físico, tanto para fins de desempenho, como também para fins de saúde, através da prática regular de atividades físicas, principalmente, realizando exercícios de força (BEPPU; BARROS; JUNIOR, 2011). No entanto, como sugerido por Ramos e Navarro (2012), o exercício físico, de forma isolada, sem que haja uma dieta balanceada, não apresenta resultados eficazes. Ademais, a importância da nutrição na saúde e no desempenho físico já se encontra suficientemente documentada na literatura (WILLIAMS, 2002; RUFATTO, 2013).

Entretanto, devido ao cotidiano longo e exaustivo da maioria da população, a alimentação tem sido posta em segundo plano, dificultando assim o desempenho físico e consequentemente, reduzindo a eficácia do treinamento (HIRSCHBRUCH; FISBERG; MOCHIZUKI, 2008b). Sendo assim, com o objetivo de “suprir” a falta de tempo e de nutrientes, diversas pessoas procuram como recurso o uso de suplementos nutricionais. Tais suplementos visam suprir as necessidades nutricionais de um indivíduo, que seja decorrente da prática de exercícios, e, por vezes, atua como auxiliares ergogênicos, ou seja, melhoram o desempenho na prática de exercícios físicos (DE SIQUEIRA NOGUEIRA; SOUZA; BRITO, 2013).

Desta forma, é evidente o crescimento da indústria de suplementos desde a aprovação do *Dietary Supplement Health and Education Act* (DSHEA) em 1994 pela *Food and Drug Administration* (FDA), órgão que possui como atribuição regulamentar a venda de medicamentos e alimentos nos Estados Unidos (HALSTED, 2000). No Brasil, esta fiscalização é realizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que atua regulamentando o uso de suplementos nutricionais, além de classifica-los para a prática desportiva pela sua composição e efeito biológico, categorizando-os em: repositores hidroeletrólitos, repositores energéticos, alimentos proteicos para atletas, alimentos compensadores e fitoterápicos.

Estudos nos Estados Unidos apontam que mais de 40% da população consome algum tipo de suplemento dietético, onde a maioria justifica como meio de atingir um bom estado de saúde (HALSTED, 2000). No Brasil, até o dado momento, não existem estudos apontando um

número global acerca do tema, entretanto, diversos estudos realizados em cidades específicas tem demonstrado a mesma tendência (HIRSCHBRUCH; FISBERG; MOCHIZUKI, 2008a; TROG; TEIXEIRA, 2010; ALBUQUERQUE, 2012; FAYH et al., 2013).

Ademais, no Brasil os produtos mais consumidos para este fim são os suplementos proteicos e a base de carboidratos (ANDRADE et al., 2012), no entanto, diversos estudos falharam em comprovar os reais benefícios destas substâncias (JENTJENS et al., 2001; ERSKINE et al., 2012), desta forma, tem se buscado novos compostos que sejam capazes de aumentar o desempenho físico.

2.2 Produtos Naturais: Ênfase na família Erythroxylaceae

As plantas medicinais tem sido usadas como ferramenta terapêutica no combate a doenças, como anestésicos locais e até mesmo como recurso ergogênico. Esta utilização iniciou desde os primórdios da humanidade e com o passar dos anos, os homens observaram suas propriedades úteis ou nocivas para cada situação e através deste conhecimento empírico gerado pela sua observação, as plantas medicinais se tornaram um importante meio terapêutico (MUKHERJEE; VENKATESH; PONNUSANKAR, 2010).

Nas últimas décadas, a população tem demonstrado um grande interesse nos potenciais farmacológicos das plantas medicinais (SILVEIRA; BANDEIRA; ARRAIS, 2008). A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que uma parte da população tem utilizado a medicina tradicional como alternativa terapêutica no tratamento de diversas doenças (ANDRADE; PEDRÃO, 2005). Diante deste crescente uso de preparações terapêuticas à base de plantas, torna-se importante ater o conhecimento científico das suas propriedades farmacológicas e toxicológicas (FIRMO et al., 2011).

O potencial efeito apresentado pelas plantas medicinais deve-se a compostos complexos (metabólitos) que são sintetizados pelo próprio vegetal a partir de substâncias simples (MACIEL et al., 2002). Assim, pesquisadores tem isolado e identificado diversas substâncias que se tornaram instrumentos valiosos para a descoberta de novas drogas mais eficazes e seguras.

Nosso país possui uma vasta e diversa flora, este recurso natural constitui-se como uma das fontes mais importantes de novas substâncias utilizadas. Mas apesar desta busca ter crescido consideravelmente, a grande maioria das espécies existentes na flora brasileira ainda permanece sem estudo farmacológico (CORRÊA JÚNIOR et al., 2006). A região nordeste do Brasil possui diversas famílias e espécies de plantas medicinais, dentre estas, podemos citar a família

Erythroxylaceae que é formada por quatro gêneros e aproximadamente 240 espécies. Sua distribuição é pantropical e pode ser encontrada em países como Brasil, Venezuela e Madagascar. Aqui no Brasil, já foram encontradas 116 espécies de 187 registradas na América Latina (ALBUQUERQUE et al., 2014).

Figura 1. Distribuição da família Erythroxylaceae no Mundo



Fonte: Missouri Botanical Garden, 2017

Os gêneros que compõem a família são: 1. *Erythroxylum* P. Browne, 2. *Aneulophus* Benth, 3. *Nectaropetalum* Engl., 4. *Pinacopodium* Excell & Mendoca. Dentre estes, a *Erythroxylum* P. Browne certamente é o gênero que possui mais espécies ao redor do mundo.

Uma das espécies deste gênero é a *Erythroxylum mucronatum* (Benth.), que possui como característica ser uma árvore alta, com média entre 2,5 a 4 metros de altura e ampla distribuição pela América do Sul. Em nosso país, ela pode ser encontrada em matas com grande umidade da Mata Atlântica e Amazônia, mais especificamente, nas regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil. Em Sergipe, é encontrada em florestas ombrófilas, estacionais e também na restinga arbórea.

Morfologicamente, esta espécie é muito semelhante a *Erythroxylum citrofolium*as, além de dividirem o mesmo hábitat. A diferença entre estas espécies se dá no tamanho e características das estípulas, onde a da *Erythroxylum citrofolium*as apresenta um tamanho médio de 6,5 mm de comprimento, são caducas, permanecem íntegras quando maduras, desprende-se dos ramos na base e os fascículos estão localizados na axila das folhas e dos catafilos. Já na *Erythroxylum mucronatum*, as estípulas apresentam um comprimento médio de 8 mm, são persistentes e se rompem quando maduras. Por fim, a espécie *Erythroxylum mucronatum* floresce e frutifica ao longo de todo o ano e em Sergipe, foi observada e registrada com flores nos meses de janeiro e fevereiro (PRATA et al., 2013).

2.3 Flavonoides

Uma parte dos compostos fenólicos são originados através do metabolismo secundário de plantas, derivados de aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina. Estes compostos são caracterizados por possuírem anéis aromáticos com grupos de hidroxila. Além disso, os compostos fenólicos são divididos em uma variedade de subtipos, dentre elas, fenóis simples, derivados do ácido benzoico, ligninas e também os flavonoides (SHAHIDI; NACZK, 2003).

Os flavonoides constituem uma importante classe de polifenóis presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários vegetais (SIMÕES, 2017). Sua estrutura química é composta por 15 átomos de carbono, arranjos em três anéis (C6 – C3 – C6), sendo eles, dois anéis aromáticos (A e B), unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico (C). O anel A se encontra acoplado ao C, e o anel B se encontra ligado ao C, nas posições 2, 3 ou 4. Além disso, estes compostos podem ocorrer em grande número conjugado com açúcares. Essa forma, chamada de conjugada, também é conhecida como heterosídeo. São O-heterosídeos quando a ligação ocorre por intermédio de uma hidroxila e Cheterosídeos quando a ligação ocorre por intermédio de um carbono. Quando se encontra sem o açúcar, é chamado de aglicona ou genina, sendo também denominada de forma livre (SIMOES, 2007). Os açúcares conjugados com flavonoides identificados até o momento são: as pentoses D-apiose, L-arabinose, Lramnose, e D-xilose; as hexoses D-alose, D-galactose, e D-glicose; e os ácidos Dgalacturônico e D-glicurônico. Os flavonoides também podem estar associados a dissacarídeos e trissacarídeos (CHEN et al., 2014).

Os flavonoides apresentam diversas atividades biológicas de interesse da classe farmacêutica, dentre elas, pode-se citar a capacidade de inibir enzimas pró-oxidantes (AKHLAGHI; BANDY, 2009). Para Haminiuk et al., (2012), esses fitoquímicos revelaram-se muito eficazes na eliminação de radicais livres e são importantes antioxidantes por causa do seu elevado potencial redox e sua capacidade de quelar metais.

2.4 Atividade Antioxidante

A oxidação compreende um processo metabólico que ocasiona a produção de energia necessária para as atividades essenciais das células, produzindo radicais livres (ROESLER et al., 2007). Os radicais livres são átomos ou moléculas capazes de possuir existência independente, contendo um ou mais elétrons desemparelhados na sua última camada de valência. Devido a sua configuração, os radicais livres possuem como característica a alta

reatividade, instabilidade e meia-vida curta, tornando-os doadores ou receptores de elétrons podendo interromper reações em cadeia e danos oxidativos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

Essas espécies reativas (ERs) são classificadas como: Espécies Reativas do Oxigênio (EROs) e Espécies Reativas do Nitrogênio (ERNs). As ERs tanto incluem radicais como o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o radical hidroxila ($OH^{\bullet}$), o óxido nítrico ($NO^{\bullet}$) e o peróxinitrito ($OONO^{\bullet}$), como também espécies não- radicalares, que são agentes oxidantes e/ou são facilmente convertidos em radicais, como por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete e o ácido hipocloroso ($HClO$) (NIKI, 2010). Em baixo nível os ERs são importantes em muitos processos bioquímicos, entretanto o seu excesso pode causar sérios problemas celulares, como destruição de membrana celular (que é rica em lipídeos que são vulneráveis à oxidação) e danos ao DNA (LIMA; BEZERRA, 2012). O excesso de formação e/ou remoção insuficiente dessas espécies reativas é chamado de estresse oxidativo. Este tem sido associado ao processo de envelhecimento e ao desenvolvimento de doenças como o câncer, diabetes, doenças cardíacas e degenerativas como o Alzheimer (ROESLER et al., 2007).

As ERs podem ser geradas por fontes endógenas (dentro do organismo) ou exógenas (externa). Alguns processos biológicos que ocorrem no organismo dão origem às ERs endógenas. Já as fontes exógenas incluem tabaco, poluição do ar, anestésicos, pesticidas e radiações. Os sistemas biológicos controlam estes fatores oxidativos via diversos mecanismos antioxidantes que reduz a reatividade dos radicais livres (SANTOS, 2015). O sistema de defesas antioxidantes é formado por linhas de defesa enzimática e não enzimática que atuam de forma colaborativa e coordenada no organismo. Entre os antioxidantes enzimáticos estão as enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidases (GPx) e catalase (CAT). Já os antioxidantes não enzimáticos obtidos através da dieta, são representados pelo ácido ascórbico (Vitamina C), α -tocoferol (Vitamina E), carotenóides, compostos fenólicos (flavonóides) e outros antioxidantes (VALKO et al., 2007).

Os compostos antioxidantes podem prevenir, impedir ou reduzir o dano de oxidação provocado pelos radicais livres. Eles fazem isso através da doação de um de seus elétrons que acaba estabilizando o radical livre e por serem estáveis não se tornam radicais livres quando doa este elétron (ROESLER et al., 2007). Do ponto de vista estrutural, os antioxidantes são compostos aromáticos que possui pelo menos uma hidroxila. O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante vai é abstraído pelos radicais livres e radicais peróxidos, a partir daí são formadas espécies inativas para reagir em cadeia e também um radical inerte oriundo do antioxidante.

Este radical inerte é estabilizado por ressonância, desta forma o mecanismo de ressonância que os antioxidantes possuem (devido ao anel aromático em sua estrutura) os impede de vir a se tornarem radicais livres e assim potencializar a oxidação lipídica (RAMALHO; JORGE, 2006).

2.5 Antioxidantes x Desempenho Físico

Os radicais livres são comumente considerados como causadores de dano celular, envelhecimento e mesmo câncer (FINKEL; HOLBROOK, 2000; VISCONTI; GRIECO, 2009), enquanto os antioxidantes são vistos como a defesa contra essas ameaças (FUSCO et al., 2007; STEBBING; HART, 2011). Como se é de comum conhecimento os efeitos nocivos dos radicais livres, também se sabe da importância dos antioxidantes alimentares (KUNWAR; PRIYADARSINI, 2011). Desta forma, muitas pessoas tem buscado suplementos nutricionais contendo vitaminas e outros antioxidantes. Sendo assim, surgiu o interesse em suplementos antioxidantes entre os atletas e pessoas que treinam regularmente, sendo atualmente, um dos mais comuns suplementos esportivos usados por atletas amadores e profissionais (MARGARITIS; ROUSSEAU, 2008).

O uso destas substâncias no esporte se baseiam na proposta que durante a prática de atividades aeróbicas intensas e em exercícios de força e explosão há um grande aumento na concentração de moléculas oxidantes, promovendo assim a fadiga muscular (GOMEZ-CABRERA; DOMENECH; VIÑA, 2008). É sabido que ao iniciar uma prática de exercício físico, o balanço redox do nosso organismo é perturbado, devido ao aumento na concentração de radicais livres induzidas pelo exercício (ASHTON et al., 1998). Este efeito inicia uma cascata de sinalização redox, que promove um aumento na expressão de enzimas antioxidantes e facilita a mobilização de agentes antioxidantes exógenos (MIYAZAKI et al., 2001; AGUILÓ et al., 2003; GROUSSARD et al., 2003) na tentativa de reequilibrar o balanço pró/anti oxidante.

No entanto, estudos sugerem que quando o exercício físico é feito de maneira intensa e sem um devido intervalo entre as sessões de treinamento para permitir a adequada recuperação, isso pode alterar a homeostase redox do organismo, mudando-a para um padrão crônico pró-oxidante que é capaz de inibir as adaptações fisiológicas provenientes do exercício, promovendo uma piora no desempenho físico e até quadros de overtraining e rhabdomiólise (ITO et al., 2000; SANTOS-SILVA et al., 2001; PALAZZETTI et al., 2003). Desta forma, tem sido postulado que o consumo de suplementos antioxidantes em situações de treinamento intenso com breves intervalos de recuperação, promova uma manutenção em níveis adequados

dos agentes oxidantes, promovendo assim a integridade da musculatura esquelética e prevenindo a queda de desempenho físico (MORILLAS-RUIZ et al., 2005; OH et al., 2010).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação com extrato etanólico de *Erythroxylum mucronatum* (Benth.) sobre o desempenho físico de ratos submetidos ao treinamento de força.

3.2 Específicos

- Averiguar o efeito da suplementação do extrato etanólico de *Erythroxylum mucronatum* na composição corporal de ratos submetidos ao treinamento de força;
- Investigar o efeito da suplementação do extrato etanólico de *Erythroxylum mucronatum* nos marcadores bioquímicos CK, LDH, ALT e AST e na peroxidação lipídica e atividade da SOD de ratos submetidos ao treinamento de força;
- Avaliar o efeito da suplementação do extrato etanólico de *Erythroxylum mucronatum* na capacidade aeróbica, anaeróbica e de força em ratos submetidos ao treinamento de força.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados 40 ratos Wistar com idade entre quatro a oito semanas no início do estudo, fornecidos pelo Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe, após o consentimento do Comitê de Ética em Pesquisa Animal desta Universidade (CEPA/UFS #79/2015). Os mesmos foram mantidos no Biotério do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular da UFS e acomodados, em número de até cinco animais, em gaiolas de propileno em condições de temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclo claro/escuro controladas, com livre acesso a água e ração específica para roedores.

4.2 Grupos Experimentais

Os animais foram randomizados em 4 grupos compostos por 10 animais:

- 1) Grupo Controle - GC
- 2) Grupo Treinado - GT
- 3) Grupo Treinado + Extrato de *Erythroxylum mucronatum* 50mg/kg – GTEM50
- 4) Grupo Treinado + Extrato de *Erythroxylum mucronatum* 150mg/kg – GTEM150

4.3 Extração, processamento e obtenção do Extrato Etanólico Bruto da *Erythroxylum mucronatum* (Benth.)

As folhas de *Erythroxylum mucronatum* foram coletadas na Serra de Itabaiana, coordenadas [10°45'19'' S, 37°20'32'' W], estado de Sergipe. O material botânico foi identificado pela Profa. Dra. Ana Paula do Nascimento Prata, taxonomista vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Uma exsicata do material em estudo foi depositada no Herbário ASE/UFS sob o número de registro 36300.

Depois de coletado, o material vegetal da espécie em estudo (folhas), foi seco em estufa de ar circulante à temperatura de 40°C, durante 72 horas, em seguida triturado em moinho mecânico, obtendo-se um pó seco.

O material vegetal seco (1145g) foi submetido à maceração exaustiva com etanol (92,3%), com renovação de solvente em intervalo de 72 horas. A solução extrativa obtida foi concentrada em rotaevaporador, sob pressão reduzida a uma temperatura de 40°C, obtendo-se

o extrato etanólico bruto (EEB).

4.4 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, utilizando o ácido gálico como padrão de referência. A quantificação por esse método se baseia na redução dos ácidos fosfotungstíco ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que estão presentes no reagente de Folin – Ciocalteu, a óxido de tungstênio (W_3O_{23}) e óxido de molibdênio (Mo_3O_{23}) em meio alcalino, pelos compostos fenólicos que estão presentes na amostra. Esses óxidos formados apresentam coloração azulada, que foi possível ser quantificada a absorvância da solução na região do visível a 720nm (CRUZ, 2008). Os resultados foram expressos em mg EAG/ g amostra (miligrama em equivalente em ácido gálico por grama da amostra) $\pm$ DP (Desvio Padrão).

4.5 Determinação do teor de flavonoides totais

Os flavonoides totais quantificados no extrato etanólico bruto foi determinado pelo método descrito por Zhishen; Mengcheng; Jianming, (1999), com algumas adaptações. Em uma microplaca foram adicionados 25 μ L das amostras a 100 μ L de água destilada e 7,5 μ L de uma solução de $NaNO_2$ (5%), agitou-se e foi aguardado 6 minutos. Passado o tempo foi adicionado 7,5 μ L de $AlCl_3$ (10%) e manteve em repouso por mais 6 minutos. Em seguida adicionou-se 100 μ L de $NaOH$ (4%) e 10 μ L de água destilada. A mistura foi mantida em repouso durante 15 minutos. Foi feito um branco (controle negativo) com metanol puro. A leitura das absorvâncias foi realizada em leitor de placas a um comprimento de onda de 510nm. Foi feita uma curva padrão de catequina (10 a 250 μ g/mL) nas mesmas condições das amostras e os resultados foram expressos em equivalentes de catequina.

4.6 Suplementação com Extrato de *Erythroxylum mucronatum*

Para mimetizar a via de consumo da população em geral, os grupos foram suplementados com extrato de *Erythroxylum mucronatum* (EEM), por meio de uma sonda oro-esofágica (1 mm de diâmetro; 3 cm de comprimento) adaptada a uma seringa de 3 ml, tendo a água como veículo de infusão ("gavage"). Este procedimento, descrito similarmente por Wibrand et al., (2013), ocorreu diariamente uma hora antes do início do treinamento físico. Foi

administrada uma a dose diária de 50 ou 150 mg/kg/dia, a depender do grupo, durante os 20 dias de treinamento no mês (dias úteis).

4.7 Protocolo de Treinamento Resistido

Os animais foram submetidos a testes para a determinação das cargas de trabalho muscular através do Teste de Uma Repetição Máxima (1RM) (ACSM, 2011). Todos os testes foram realizados no aparelho de agachamento segundo o modelo de Tamaki et al., (1992) (Figura 2).

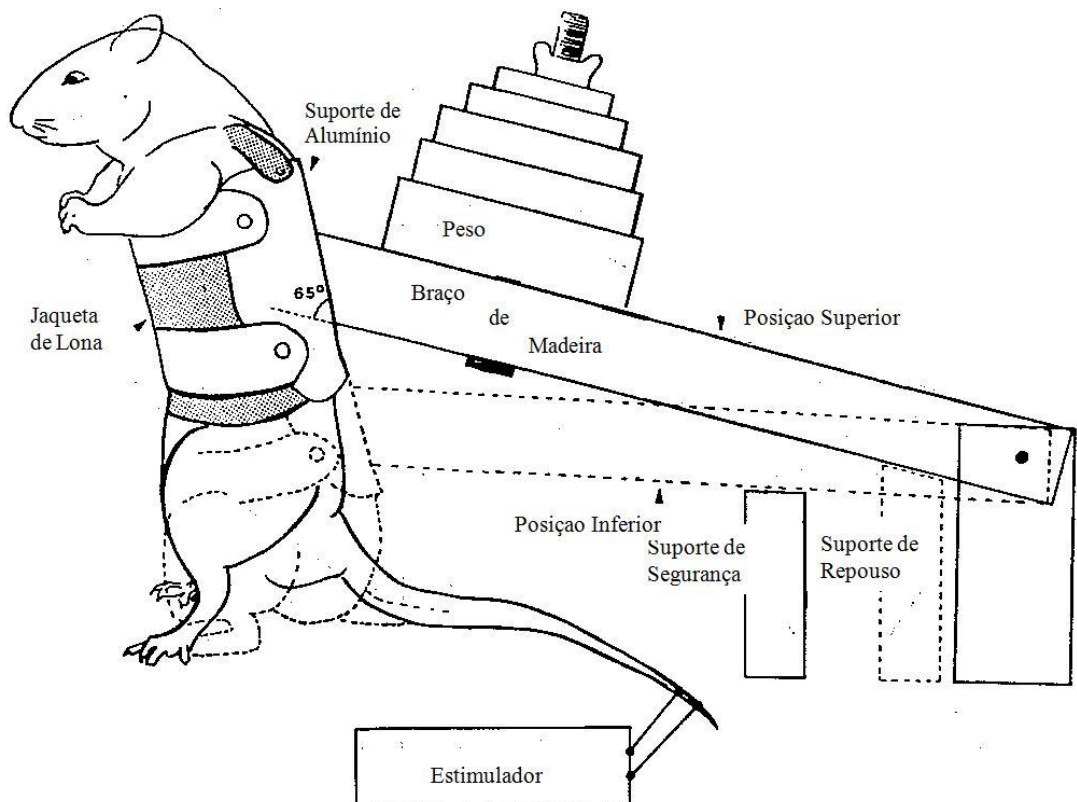


Figura 2. Esquema do aparelho de agachamento (adaptado de TAMAKI et al., 1992).

O programa de exercícios dos grupos treinados foi realizado durante 4 semanas, a partir das cargas estabelecidas de 1RM (intensidade). O treinamento físico resistido foi realizado com volume semanal de 5 treinamentos com 3 séries de 10 repetições com um intervalo de 1 minutos entre as séries e com a intensidade definida pelo percentual de 60% da carga máxima estabelecida no teste 1RM durante 4 semanas. Na metade do período de treinamento proposto (2ª semana) foi realizado um novo teste de 1RM para realizar os ajustes de cargas derivados da

melhora de desempenho dos animais. Ao término das 4 semanas mais um teste de 1RM foi realizado afim de compreender o ganho de força máxima durante o período de 4 semanas.

Os animais foram estimulados para executar as séries de exercício através de um eletrodo posicionado na cauda e conectado a um eletroestimulador (BIOSET, Physiotonus four, Modelo 3050, Rio Claro, São Paulo). Os parâmetros utilizados foram: frequência 1 Hz, largura de pulso de 1ms, tempo de on 1 a 3 segundos, tempo de off 2 segundos e intensidade suficiente para que os animais executassem os exercícios físicos, variando de 4 a 15mA.

Os animais alocados no grupo controle foram eletroestimulados e submetidos a um período de exercício físico fictício. Da mesma forma que os animais do grupo treinado, os animais do grupo controle foram colocados no aparelho de exercício físico e receberam estímulo elétrico na cauda em intervalos de tempo e intensidade semelhantes, entretanto o aparelho não continha pesos e se encontrava na posição de descanso, impossibilitando, dessa forma, a execução do esforço.

4.8 Avaliação da Composição Corporal

A massa corporal dos animais de todos os grupos foi acompanhada a cada 7 dias, através de uma balança de precisão (Bioprecisa, Modelo Bs 3000A). Além disso, ao término do protocolo experimental, os animais foram eutanasiados e a cavidade peritoneal foi inspecionada. Foram obtidas a gordura perigonadal e retroperitoneal, através de técnicas de dissecação, em seguida, estes tecidos foram pesados em balança analítica (Shimadzu, Modelo AUW220D). Ademais, os músculos plantares foram cuidadosamente dissecados e extraídos, em seguida, também foram pesados em balança analítica e posteriormente congelados para análises mais específicas.

4.9 Desempenho Físico

4.9.1 Teste Motor em Rota-Rod

Os efeitos motores promovidos pelos protocolos estudados foram testados através da esteira Rota-rod (AVS Projetos). Especificamente, os animais foram colocados no aparelho rodando a uma velocidade constante de 15 rotações por minuto (rpm). Foi realizada uma sessão com três tentativas por animal um dia antes do início do treinamento, após o décimo quinto e o

trigésimo dia do protocolo. O tempo de performance, em segundos, foi registrado até que o rato tivesse dificuldade de permanecer na esteira ou caísse do aparato.

4.9.2 Teste de Força Muscular

O teste neuromuscular foi aplicado para medir a força de preensão do animal imposta através de uma grade. O Grip Strength Meter (EFF 305, Insight®) que foi usado para este teste possui uma barra metálica transversa onde o animal foi posicionado com as quatro patas em apoio. Em seguida, o animal foi retirado desta placa pelo avaliador pela cauda, gerando assim uma força de preensão nesta grade que foi interpretada pelo aparelho e gravada como a força exercida pelo animal. Após três minutos, o mesmo protocolo foi aplicado no animal, entretanto, o animal foi posicionado na barra metálica apenas com as duas patas dianteiras em apoio, da mesma forma anterior, o aparelho registrou a força exercida pelo animal.

4.9.3 Teste de Resistência Muscular

Quarenta e oito horas após o término do protocolo de treinamento, os animais de todos os grupos foram submetidos ao teste de resistência muscular. Este teste foi realizado no aparelho de agachamento utilizado para o treinamento, mas com 30% do valor do 1RM encontrado ao final do protocolo. Neste teste, os animais foram levados até a exaustão e foi contabilizado o número de repetições realizadas até a falha do movimento de extensão do joelho do animal ser observada.

Vinte quatro horas antes do teste e em jejum prévio de 8 horas, foi realizada uma medida da glicemia dos animais (Accu-Check Active, Roche) através da coleta de amostra sanguínea da cauda. Imediatamente antes de iniciar o teste, imediatamente após o término do teste e 15 minutos depois do término do teste, o mesmo procedimento descrito acima foi realizado.

Imediatamente antes do início e depois do teste também foi mensurado a concentração de lactato sanguínea (Accutrend Plus, Roche) pela mesma via de coleta citada acima.

4.10 Stress Oxidativo

4.10.1 Peroxidação Lipídica

Os músculos plantares foram homogeneizados e adicionados a dodecil sulfato de sódio, ácido acético (pH 3,4), e ácido 2-tiobarbitúrico (0,8%). As misturas foram mantidas durante 60 minutos a 90°C, em tubos selados. As amostras foram centrifugadas durante cinco minutos a 3.000 g (Jouan BR4i), alíquotas destas amostras foram colocadas em placas de 96 poços e a absorbância medida a 540 e 570 nm em espectrofotômetro de placa. A quantidade de malondialdeído produzido foi expressa em nanomoles por miligrama de proteína e foi interpretada como níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) indicando o grau de lipoperoxidação (GIODA et al., 2010).

4.10.2 Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

Uma amostra de tecido do músculo plantar foi homogeneizada e adicionada em 50 mM de tampão de fosfato de sódio (pH 7,8 - 37°C) contendo 1 mM de ácido dietilenotriamina pentacético. A reação será iniciada pela adição de 0,2 mM de pirogallol e as amostras serão aquecidas a 37°C durante 3 minutos. A absorbância será determinada a 420 nm. Atividade SOD será calculada como unidades por miligrama de proteína, e uma unidade de enzima será considerada como sendo a quantidade que causou a inibição da auto-oxidação de pirogallol em 50% (GIODA et al., 2010).

4.11 Avaliação da Função Hemodinâmica

Após o término das 4 semanas de treinamento, 5 animais de cada grupo foram anestesiados com ketamina/xylazina (80 mg/kg^{-1} / 10 mg/kg^{-1}) e foi realizada uma cirurgia para implante dos cateteres de polietileno na artéria femoral, para registro da pressão arterial. Após a cirurgia, os animais receberam uma dose ($1,1 \text{ mg/kg}$) de Banamine (flunixin-meglumina - Schering) I.P. Os animais permaneceram em recuperação por 24 horas até o início dos experimentos.

O registro da pressão arterial e da frequência cardíaca foi realizado em animais não anestesiados por meio da conexão da cânula da arterial femoral com o transdutor mecanoelétrico de pressão (ML866/P, ADInstruments, Power Lab, Bella Vista, NSW,

Australia), cujo sinal foi devidamente amplificado, digitalizado por meio de uma interface analógico/digital e amostrado a 5000 Hz em um microcomputador equipado com um software apropriado (LabChart 7 Pro, ADInstruments, Bella Vista, NSW, Australia), para posterior análise. A pressão arterial média (PAM), sistólica (PAS), diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC) foram derivadas da pressão arterial pulsátil (PAP).

4.12 Avaliação da Funcionalidade Hepática

A funcionalidade hepática foi avaliada através da mensuração dos níveis das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Para esta análise, durante a eutanásia dos animais, foi coletado sangue pela aorta abdominal e em seguida este material foi armazenado em microtubos sem a presença de anticoagulantes e posteriormente foi centrifugado e coletado amostras do soro sanguíneo. A determinação destes parâmetros foi realizada através da técnica de colorimetria, utilizando-se kits comerciais (Labtest, Minas Gerais, Brasil).

4.13 Avaliação do Dano Muscular

Uma amostra de tecido do músculo plantar foi homogeneizada e o perfusato foi utilizado para avaliação da atividade das enzimas creatina quinase total (CK) e lactato desidrogenase (LDH) através de kit comercial específico para cada enzima (Bioclin, Minas Gerais, Brasil). Foi utilizado o método cinético, sempre seguindo as instruções do fabricante.

4.14 Análise Estatística

Os valores foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Para avaliar a diferença entre as médias nos testes de avaliação da gordura perigonadal, retroperitoneal, peso do músculo plantar, PAM, PAS, PAD, FC, teste de resistência muscular, TBARS, SOD, CK, LDH, ALT e AST foi realizada uma ANOVA de uma-via, seguida pós-teste de Tukey. As diferenças entre as médias nos testes de avaliação do peso corporal, rota-rod, grip strength, 1RM, glicemia e lactato foram analisadas através de uma ANOVA de duas-vias, seguida pelo pós-teste de Tukey. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Para todos estes procedimentos, foi utilizado o software estatístico GraphPad Prism™ 6.0 (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA).

5. RESULTADOS

5.1 Determinação do teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais

O teor dos compostos fenólicos totais e flavonoides totais foram determinados por espectrofotometria. Os resultados estão expressos em mg EAG/g de amostra (compostos fenólicos totais) e em mg EC/ g de amostra (flavonoides totais) $\pm$ Desvio Padrão (DP).

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais em EEB

Composto	Quantidade
Compostos Fenólicos Totais	213,29 $\pm$ 5,58 mg EAG/g amostra
Flavonoides Totais	355,73 $\pm$ 7,74 mg EC/g amostra

5.2 Composição Corporal

O treinamento resistido em moderada intensidade não foi capaz de causar alterações no peso corporal dos animais durante os 30 dias de avaliação, mesmo quando suplementado com o EEM 50mg/kg. Entretanto, o grupo exercitado e suplementado com EEM 150mg/kg obteve um peso final (trigésimo dia) estatisticamente menor quando comparado ao grupo controle (GC 331g $\pm$ 16,75 vs. GTEM150 286g $\pm$ 7,34) (Figura 3A). Ao avaliarmos a composição corporal destes animais, observamos que os grupos treinados e suplementados com EEM (50 e 150 mg/kg) possuíam uma menor quantidade de gordura corporal nas regiões perigonadal (GTEM50 3,75g $\pm$ 1,84 e GTEM150 3,26g $\pm$ 1,16 vs GC 11,78g $\pm$ 2,38) (Figura 3B) e retroperitoneal (GTEM50 3,38g $\pm$ 1,56 e GTEM150 3,12g $\pm$ 1,12 vs GC 11,76g $\pm$ 2,35) (Figura 3C). Além disso, ao avaliarmos o peso do músculo plantar, um dos mais solicitados no exercício proposto neste estudo, observamos que todos os grupos exercitados geraram uma hipertrofia deste tecido (GT 530g $\pm$ 15,17 ; GTEM50 542g $\pm$ 16,85 e GTEM150 569g $\pm$ 18,01 vs GC 452g $\pm$ 19,42) (Figura 3D).

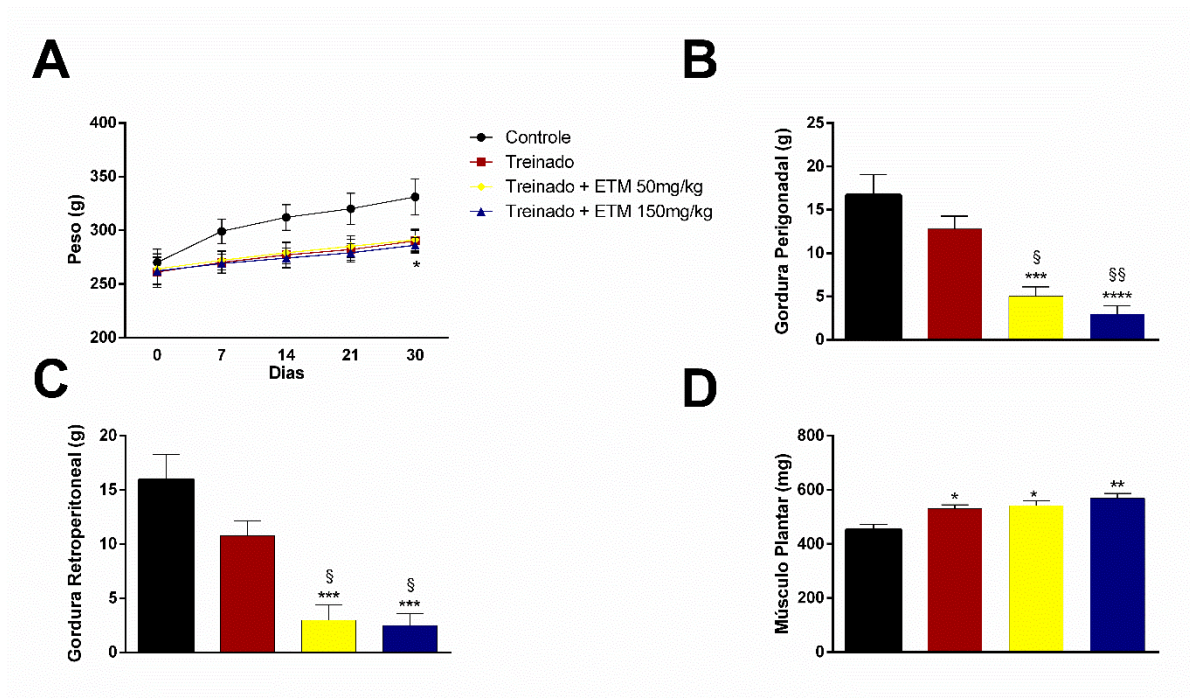


Figura 3. Valores de peso corporal, gordura perigonadal e retroperitoneal e peso dos músculos plantares. 3A. Valor de peso corporal. 3B. Valores do peso de gordura perigonadal. 3C. Valores do peso de gordura retroperitoneal. 3D. Valores do peso dos músculos plantares. Valores expressos em média $\pm$ EPM para grupos experimentais de 5 animais. Análise estatística das diferenças foi determinada pelo teste de ANOVA de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey (Figura 1A) e ANOVA de uma via, seguida pelo pós-teste de Tukey (Figura 1B, 1C, 1D). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ vs Controle. § $p < 0,05$; §§ $p < 0,01$ vs Treinado.

5.3 Desempenho Físico

Inicialmente realizamos uma avaliação do desempenho motor, através do teste de Rota Rod (Figura 4), onde observamos uma melhora de performance nos animais do grupo Treinado + EEM 150mg/kg quando comparados ao controle, no trigésimo dia (GTEM150 $223 \pm 7,34$ vs GC $178 \pm 13,48$).

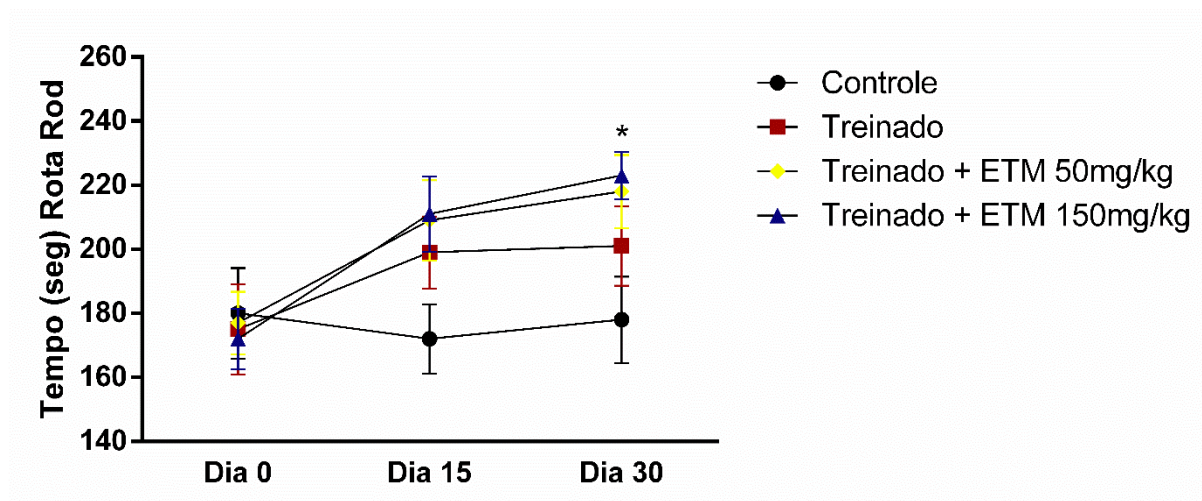


Figura 4. Tempo em segundos no Rota Rod pré-treino (Dia 0), durante o treinamento (Dia 15) e após o treinamento (Dia 30). Valores expressos em média $\pm$ EPM para grupos experimentais de 5 animais. Análise estatística das diferenças foi determinada pelo teste de ANOVA de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ vs Controle.

Além disso, foi realizada uma avaliação da força de preensão dos animais através do teste de Grip Strength. Nós observamos que a força de preensão dos animais suplementados com EEM 50 e 150 mg/kg, utilizando as 4 patas, já foi maior que o controle no décimo quinto dia (GTEM50 $1890g \pm 70,36$ e GTEM150 $2010g \pm 110,74$ vs GC $1390g \pm 75,37$). No trigésimo dia observamos que, nesta condição experimental, todos os três grupos treinados tinham mais força que o GC e o GTEM150 obteve melhor resultados que os grupos GT e GTEM50 (GT $1950g \pm 104,84$ GTEM50 $2180g \pm 106,37$ e GTEM150 $2680g \pm 116,38$ vs GC $1410g \pm 128,31$). (Figura 5A). Em seguida, repetimos o teste apenas utilizando as patas dianteiras dos animais. Nesta condição experimental, não houve diferença estatística em nenhum dia de avaliação (Figura 5B). Por fim, nós realizamos uma subtração da força de preensão encontrada no teste com as 4 patas pela força encontrada no teste com as patas dianteiras, resultado que apontou a força de preensão das patas traseiras. Observamos que os três grupos treinados possuíam força de preensão de membros inferiores maior que o controle já no décimo quinto dia (GT $1530 \pm 99,87$; GTEM50 $1730 \pm 94,80$; GTEM150 $2170 \pm 101,74$ vs GC $920 \pm 80,96g$). No trigésimo dia, todos os grupos treinados obtiveram força de preensão maior que o grupo controle. Além disso, o GTEM150 obteve maior força que os GT e GTEM50 (GT $1530 \pm 99,87$ vs GTEM50 $1730 \pm 94,80$ vs GTEM150 $2170 \pm 101,74$ vs GC $920 \pm 80,96g$) (Figura 5C).

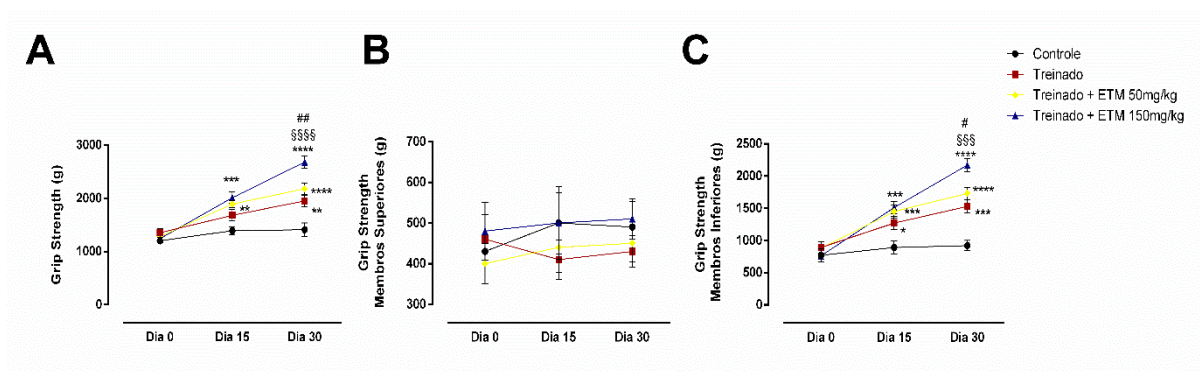


Figura 5. Força em gramas no teste grip strength, pré-treino (Dia 0), durante o treinamento (Dia 15) e após o treinamento (Dia 30). 5A. Valores de força gerada no Grip Strength com as 4 patas. 5B. Valores de força gerada no Grip Strength com as 2 patas dianteiras. 5C. Valores de força no Grip Strength calculados pela subtração da força com 4 patas pela força com as 2 patas dianteiras – Grip Strength Membros Inferiores. Valores expressos em média $\pm$ EPM para grupos experimentais de 5 animais. Análise estatística das diferenças foi determinada pelo teste de ANOVA de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ vs Controle. \$\$\$ $p < 0,001$; \$\$\$\$ $p < 0,0001$ vs Treinado. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ vs Treinado + EEM 50mg/kg.

Ademais, realizamos o teste de uma repetição máxima (1RM) a cada quinze dias. Observamos que os animais treinados possuíam maiores valores de 1RM quando comparados ao controle, desde o décimo quinto dia. Entretanto, o GTEM150 neste mesmo dia, já apresentava valores de 1RM maior que os outros grupos treinados (GT $2000 \pm 45,53$ vs GTEM50 $2100 \pm 31,75$ vs GTEM150 $2400 \pm 34,28$ vs GC $1800 \pm 40,72$ g). No trigésimo dia, o mesmo padrão de resposta observada no décimo quinto dia foi observado, além disso, o GTEM50 obteve um maior 1RM quando comparado ao GT (GT $2400 \pm 47,97$ vs GTEM50 $2700 \pm 36,758$ vs GTEM150 $3100 \pm 37,48$ vs GC $2100 \pm 35,18$ g) (Figura 6A).

Ao término dos 30 dias de treinamento, foi realizado o teste de resistência muscular. Observamos que todos os grupos treinados obtiveram melhor desempenho quando comparado ao GC. No entanto, o GTEM150 apresentou desempenho superior aos outros grupos treinados (GC $18 \pm 1,39$ vs GT $27 \pm 2,15$ vs GTEM50 $32 \pm 1,48$ vs GTEM150 $40 \pm 1,16$ repetições) (Figura 6B). Além disso, durante este teste, realizamos a mensuração da glicemia (Figura 6C) e lactato (Figura 6D). O GTEM150 apresentou imediatamente após o teste uma menor resposta de hipoglicemia quando comparado ao controle (GC $68,2 \pm 6,35$ vs GTEM150 $89,5 \pm 3,16$ mg/dL) e uma menor resposta compensatória de hiperglicemia após o teste quando comparado aos grupos controle e treinado (GC $128,7 \pm 4,78$ vs GT $122,8 \pm 3,78$ vs GTEM150 $106,2 \pm 4,68$ mg/dL). Em relação aos níveis de lactato, observamos que, após a interrupção teste, todos os grupos treinados apresentaram uma menor concentração de lactato na corrente sanguínea quando comparados ao controle (GC $9,8 \pm 0,57$ vs GT $7,7 \pm 0,47$ vs GTEM50 $6,9 \pm 0,52$ vs GTEM150 $7,9 \pm 0,57$ mmol/L). Após 15 minutos de encerramento do teste, os níveis de lactato

foram mensurados novamente e foi observado que todos os grupos tendiam a retornar aos níveis basais, entretanto, todos os grupos treinados tiveram uma remoção do lactato mais acelerada quando comparado ao GC e o GTEM150 removeu o lactato mais rapidamente que o GT e o GTEM50 (GC $6,9 \pm 0,69$ vs GT $4,9 \pm 0,6$ vs GTEM50 $5,0 \pm 0,58$ vs GTEM150 $3,0 \pm 0,49$ mmol/L)

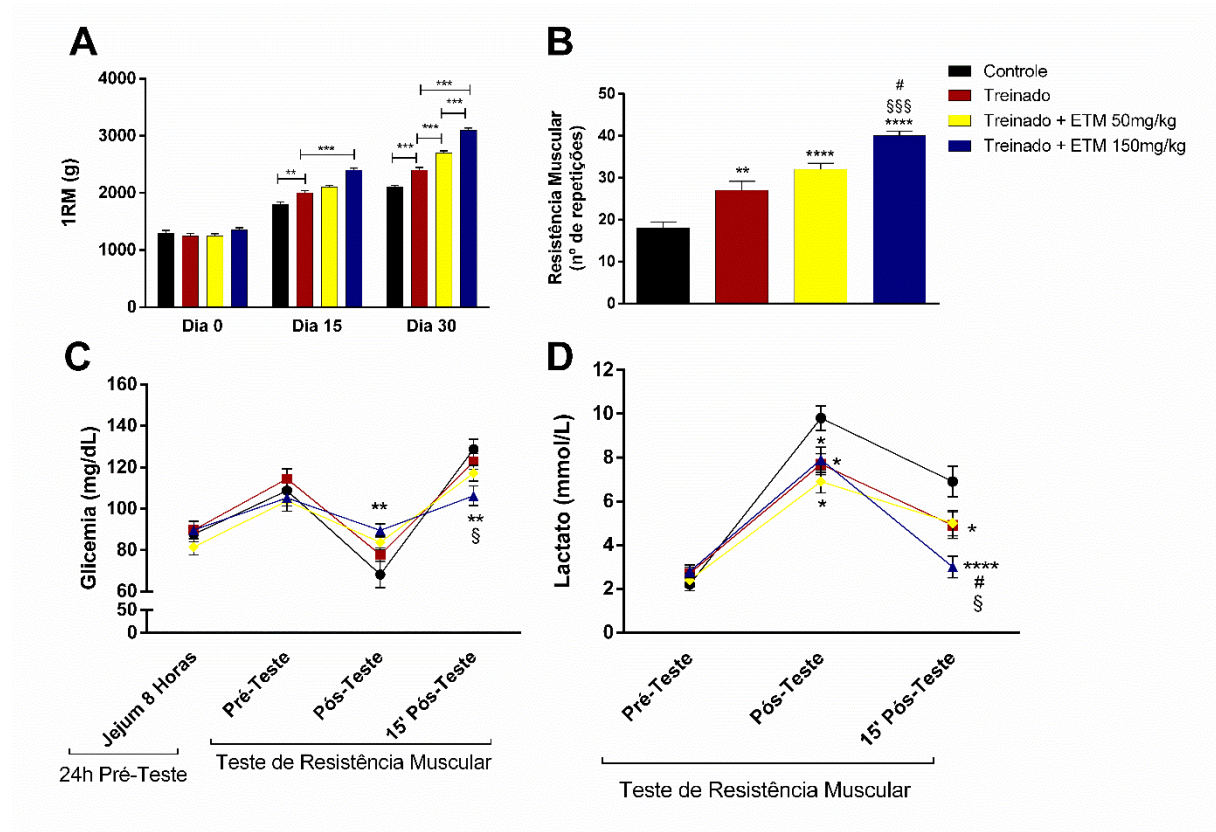


Figura 6. Peso em gramas no teste de 1RM ao longo dos 30 dias e resultados do teste de resistência muscular e glicemia e índices de lactato. 6A. Peso nos testes de 1RM pré treino (Dia 0), durante o treino (Dia 15) e pós treino (Dia 30). 6B. Número de repetições realizadas no teste de resistência muscular. 6C. Glicemia em jejum, pré-teste, pós-teste e 15 minutos pós-teste de resistência muscular. 6D. Concentração de lactato pré e pós-teste de resistência muscular. Valores expressos em média $\pm$ EPM para grupos experimentais de 5 animais. Análise estatística das diferenças foi determinada pelo teste de ANOVA de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey (Figura 6A, 6C, 6D) e ANOVA de uma via, seguida pelo pós-teste de Tukey (Figura 6B). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$ vs Controle. § $p < 0,05$; §§§ $p < 0,001$ vs Treinado. # $p < 0,05$ vs Treinado + EEM 50mg/kg. No teste de 1RM (Figura 6A) as comparações estão apresentadas diretamente no gráfico, onde: ** $p < 0,01$; **** $p < 0,001$.

5.4 Stress Oxidativo

O perfil oxidativo foi avaliado no músculo plantar dos animais treinados. Os níveis de stress oxidativo foram mensurados pelo TBARS, onde foi observada uma redução significativa no GTEM150 (GC $0,19 \pm 0,009$ vs GT $0,1 \pm 0,012$ vs GTEM50 $0,097 \pm 0,008$ vs GTEM150 $0,042 \pm 0,016$) (Figura 7A). Além disso, foi observada uma maior concentração da enzima SOD

em todos os grupos treinados quando comparados ao controle e do GTEM150 quando comparado aos demais grupos (GC $0,002 \pm 0,00028$ vs GT $0,0035 \pm 0,00019$ vs GTEM50 $0,004 \pm 0,00021$ vs GTEM150 $0,0051 \pm 0,00031$) (Figura 7B).

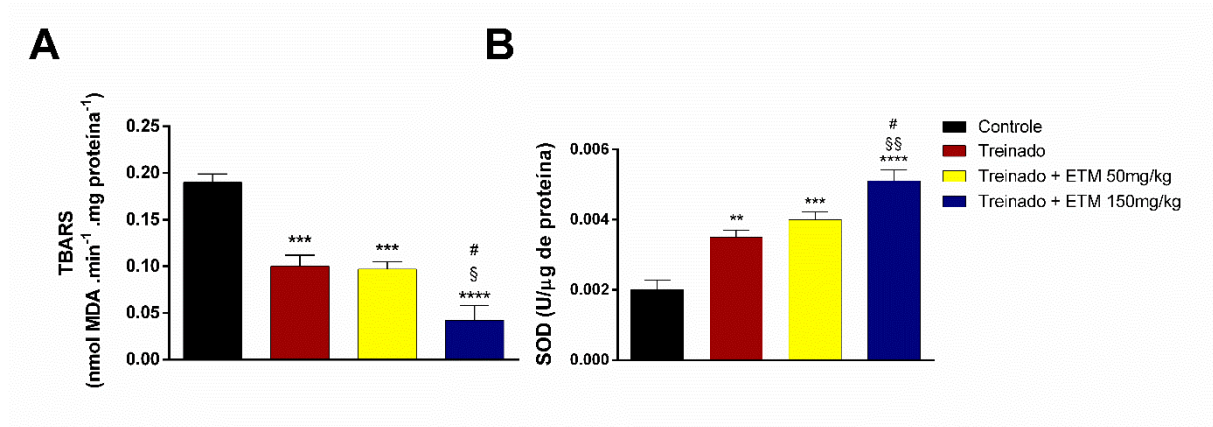


Figura 7. Peroxidação lipídica (Figura 7A) e atividade da SOD (Figura 7B). Análise estatística das diferenças foi determinada pelo teste de ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001 vs Controle; §§p<0,01 vs Treinado e # p<0,05 vs Treinado + EEM 50 mg/kg.

5.5 Função Hemodinâmica

A avaliação hemodinâmica nos revelou uma redução na pressão arterial média (GC $111 \pm 5,54$ vs GT $90 \pm 5,27$ vs GTEM50 $91 \pm 4,28$ vs GTEM150 $89 \pm 4,38$ mmHg) (Figura 8A), sistólica (GC $140 \pm 6,37$ vs GT $108 \pm 4,32$ vs GTEM50 $109 \pm 7,38$ vs GTEM150 $111 \pm 6,72$ mmHg) (Figura 8B), diastólica (GC $96 \pm 3,84$ vs GT $81 \pm 3,32$ vs GTEM50 $82 \pm 2,52$ vs GTEM150 $79 \pm 3,97$ mmHg) (Figura 8C) e frequência cardíaca (GC 468 ± 39 vs GT 327 ± 34 vs GTEM50 318 ± 28 vs GTEM150 311 ± 31 bpm) (Figura 8D) em todos os grupos exercitados quando comparados ao controle.

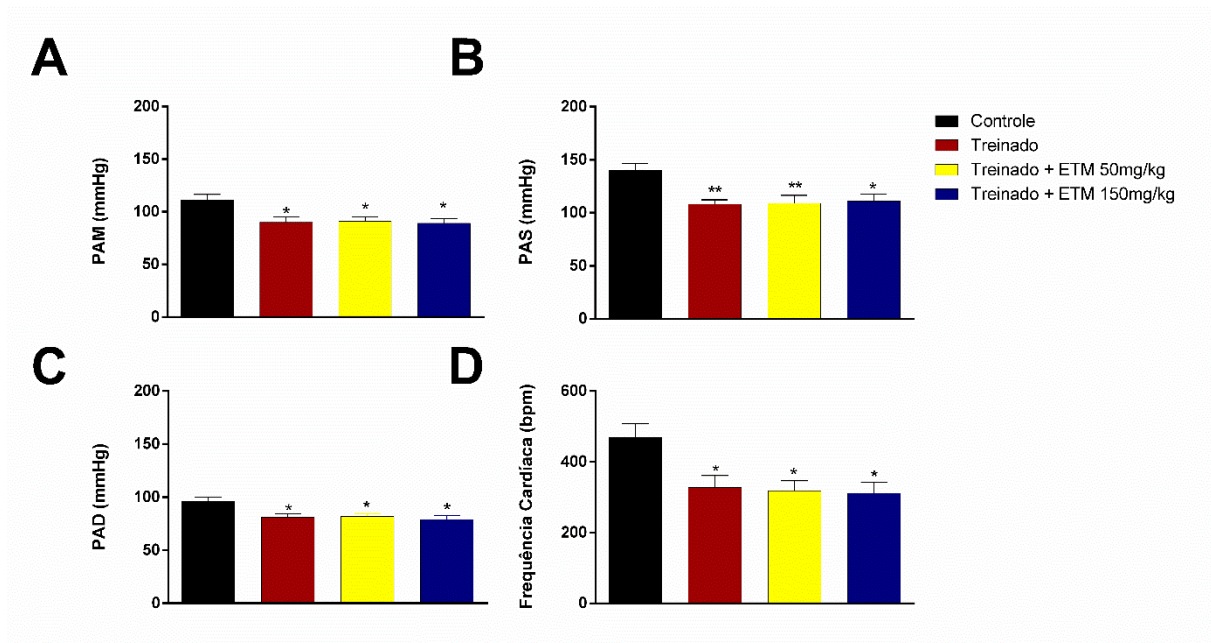


Figura 8. Função hemodinâmica após 30 dias de protocolo. Pressão Arterial Média (Figura 8A), Pressão Arterial Sistólica (Figura 8B), Pressão Arterial Diastólica (Figura 8C), Frequência Cardíaca (Figura 8D). Análise estatística das diferenças foi determinada pelo teste de ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. *p<0,05; **p<0,01 vs Controle.

5.6 Funcionalidade Hepática

A funcionalidade hepática foi mensurada através dos marcadores bioquímicos ALT e AST. No presente estudo não foi observada diferenças estatísticas entre os grupos analisados em nenhum dos parâmetros (ALT: GC $50,2 \pm 4,5$ vs GT $44,6 \pm 5,6$ vs GTEM50 $60 \pm 4,9$ vs GTEM150 $56 \pm 6,1$ U/L) (AST: GC $62,1 \pm 4,9$ vs GT $54,6 \pm 6,2$ vs GTEM50 $62 \pm 4,7$ vs GTEM150 $59,8 \pm 7,8$ U/L) (Figura 9).

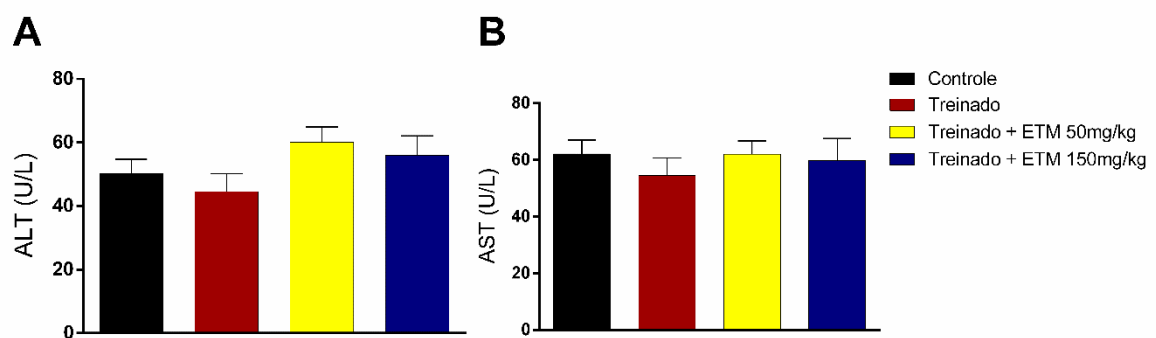


Figura 9. Funcionalidade Hepática. Níveis de ALT (Figura 9A) e AST (Figura 9B). Análise estatística das diferenças foi determinada pelo teste de ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey.

5.7 Marcadores de Dano Muscular

Foi avaliado no perfusato do músculo plantar, a atividade das enzimas CK total e LDH. Nossos resultados apontam que o treinamento resistido aumentou a atividade destas enzimas, ao passo que a suplementação com EEM foi dose dependente na atenuação e reversão deste resultado (CK: GC $62 \pm 3,79$ vs GT $101 \pm 4,00$ vs GTEM50 $92 \pm 3,89$ vs $73 \pm 4,16$ U/L) e (LDH GC $13 \pm 1,8$ vs GT $28 \pm 1,48$ vs GTEM50 $20 \pm 1,13$ vs GTEM150 $14 \pm 1,28$ U/L).

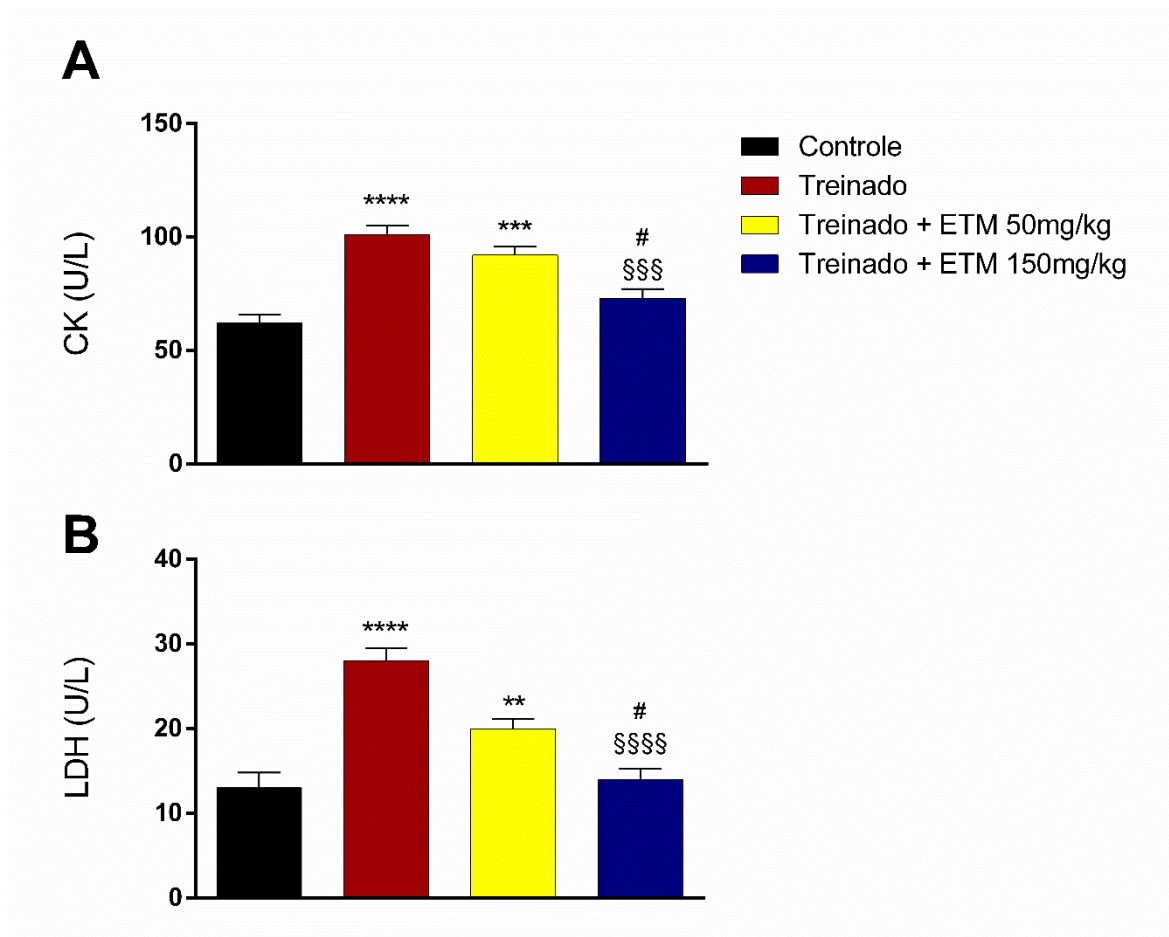


Figura 10. Marcadores de dano muscular. Atividade da enzima creatina quinase (CK) (Figura 10A) e da enzima lactato desidrogenase (LDH) (Figura 10B). Análise estatística das diferenças foi determinada pelo teste de ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ vs Controle; \$\$\$ $p < 0,001$; \$\$\$\$ $p < 0,0001$ vs Treinado e # $p < 0,05$ vs Treinado + EEM 50 mg/kg.

6. DISCUSSÃO

Neste estudo, avaliamos os efeitos de programa de treinamento de força e a associação com a suplementação de um extrato natural (*Erythroxylum Mucronatum*) sobre parâmetros de composição corporal, de desempenho físico, de stress oxidativo, de função hemodinâmica, dano muscular e funcionalidade hepática. Os nossos principais achados são que o EEM: 1. É rico em flavonoides; 2. Reduz a quantidade de gordura corporal; 3. Aumenta a força de preensão, medida no teste de grip strength e força máxima, medida no teste de 1RM; 4. Aumenta a resistência muscular, prevenindo a fadiga. 5. Preveni a peroxidação lipídica e a aumentar a atividade da SOD; 6. Reduz a atividade de enzimas marcadoras do dano muscular.

Incialmente, vale ressaltar que o modelo de treinamento adotado neste estudo envolve uma estimulação elétrica na cauda dos animais para que os mesmos completem os movimentos de agachamento propostos (TAMAKI; UCHIYAMA; NAKANO, 1992). No entanto, recentes estudos do grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular (LAFAC) da Universidade Federal de Sergipe demonstraram que a estimulação elétrica caudal isoladamente não foi capaz de induzir mudanças na função hemodinâmica do animal (FONTES et al., 2014; MACEDO et al., 2016). Além disso, Barauna et al., (2005) demonstraram que, em relação a parâmetros estressores, como os níveis de catecolaminas plasmáticas ou o peso da glândula adrenal, os animais que passaram pela eletroestimulação não sofreram nenhum tipo de alteração fisiológica.

Após o protocolo de 4 semanas de treinamento e suplementação, observamos que o GTEM150 apresentou um menor ganho de peso corporal quando comparado ao grupo GC, mas sem alterações significativas quando comparado aos demais grupos treinados. Ainda assim, nós investigamos os componentes corporais, através do peso da gordura perigonadal, retroperitoneal e dos músculos plantares. Ao realizarmos estas análises, observamos que o GTEM50 e 150 apresentaram uma menor quantidade de tecido adiposo nestas regiões quando comparados ao GC e GT, ao passo que todos os grupos treinados possuíam uma maior massa de músculo plantar, sugerindo-se desta forma que o EEM não foi capaz de promover hipertrofia muscular, sendo o aumento do peso muscular proveniente da pratica do treinamento de força, mas foi extremamente eficiente em reduzir a quantidade de gordura corporal.

O treinamento físico é tido como uma excelente estratégia para manutenção de um peso corporal saudável, além disso, é uma estratégia amplamente recomenda por diversas sociedades para redução de peso e melhora da qualidade de vida (WING; PHELAN, 2005; DONNELLY et al., 2009). Além disso, atualmente, é comum observamos a utilização de suplementos em

praticantes de atividades físicas (DOS SANTOS; DOS SANTOS, 2017) e como descrito anteriormente, o EEM utilizado neste estudo é extremamente rico em flavonoides. Diversos estudos tem apontado que extratos de plantas ricas em flavonoides, em especial, em catequinas, são capazes de reduzir a gordura corporal e o risco de cardiomorbidades (NAGAO et al., 2005; NAGAO; HASE; TOKIMITSU, 2007).

Estudos mais detalhados foram realizados para tentar compreender o mecanismo que os flavonoides agem na redução da gordura corporal, desta forma, trabalhos que avaliaram o metabolismo lipídico após a suplementação com extratos ricos em flavonoides/catequinas, observaram que estes compostos são capazes de reduzir a concentração de triacilglicerol e do colesterol total (NANJO; HARA; KIKUCHI, 1994), inibindo assim o acúmulo de gordura hepática e na região abdominal (CHENG et al., 2017), não apenas em obesos, mas também em indivíduos não-obesos (ITO et al., 2008). Além destes efeitos citados, Lu et al., (2012) apontam que extratos ricos em flavonoides/catequinas são capazes de modular genes relacionados com o desenvolvimento da obesidade, permitindo assim, uma regulação do peso corporal. Tomando estes dados em conjunto, nós acreditamos que a suplementação com EEM haja de forma semelhante à descrita acima, possibilitando uma significativa redução no acúmulo de gordura corporal.

Para confirmar nossa hipótese que o EEM seria capaz de melhorar o desempenho físico, realizamos diversos testes motores e físicos nos animais. Dentre estes, o protocolo de rota-rod utilizado neste estudo mimetizou uma condição de esforço aeróbico até a fadiga, uma vez que os animais foram submetidos a um protocolo contínuo, sem tempo máximo para interrupção do teste. Nós observamos que os animais suplementados com EEM 150mg/kg conseguiam se manter por mais tempo no aparelho quando comparados ao GC, porém, sem diferenças quando comparado aos demais grupos.

O protocolo de treinamento utilizado em nosso estudo foi um modelo anaeróbico, ao passo que o rota-rod foi um experimento que inseriu os animais em uma condição aeróbica, ou seja, diferente da que estava sendo experimentada pelos animais treinados durante as 4 semanas de estudo. Sendo assim, não era esperado que os animais dos grupos treinados tivessem melhores desempenhos neste teste, entretanto, surpreendentemente, o GTEM150 teve um desempenho melhor que o GC e uma tendência a ser melhor que o GT. A literatura aponta que os flavonoides possuem atividade antifadigante, devido a sua capacidade em tamponar marcadores de estresse da musculatura esquelética (XIAOMING; LING; JINGHANG, 2011), sendo assim, esta capacidade, talvez, possa explicar este resultado observado em nosso estudo.

Adicionalmente, realizamos os experimentos no grip-strength e notamos que os animais do GTEM150 possuíam maior força, entretanto, quando realizamos o mesmo teste apenas com as patas dianteiras, não observamos diferença entre os grupos estudados. Sendo assim, utilizamos a estratégia matemática da subtração da força com as 4 patas pela força com as 2 patas dianteiras para encontrarmos o resultado de força das 2 patas traseiras. Interessantemente, desta forma, conseguimos observar que o ganho de força no grip strength após os 30 dias de protocolo de treinamento e suplementação. Como os animais foram submetidos a um treinamento de força, era esperado que o protocolo promovesse ganho de força (ACSM, 2009). Ademais, é importante salientar que o exercício deste protocolo mimetiza um agachamento (TAMAKI et al., 1992), desta forma, os membros inferiores foram os mais recrutados durante o período de treinamento, explicando assim os resultados mais expressivos nesta região, entretanto, em nosso estudo, nós observamos que o EEM promoveu um ganho de força maior que apenas o treinamento físico.

Para tentarmos compreender as respostas descritas acima, vale lembrar que a resposta adaptativa ao treinamento para o ganho de força ocorre através de adaptações neurais e morfológicas (KOMI, 1986; HÄKKINEN et al., 2001; SALE, 2003; GABRIEL; KAMEN; FROST, 2006; BAKER; NEWTON, 2008). Nosso protocolo de treinamento, teve uma duração total de 30 dias, onde os animais passaram por um total de 20 sessões de treinamento com intensidade de 60% de 1RM, considerada moderada pelo Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM, 2009). Esta mesma entidade cita que treinamentos para hipertrofia devem ser realizados com intensidades entre 70-85% de 1RM. Além disso, DeFreitas et al., (2011) avaliaram o período mínimo necessário para promoção de hipertrofia muscular em jovens saudáveis treinando com 80% de 1RM e concluíram que, apesar de ocorrer um aumento na área transversal do músculo já com 2 sessões de treinamento, hipertrofia muscular só foi observada após a 3-4 semana de treinamento.

Em relação aos possíveis efeitos EEM no ganho de força, a literatura mais recente tem apontado que o uso de suplementos ricos em substâncias antioxidantes, como flavonoides, prejudicam o ganho de força (RISTOW et al., 2009; STROBEL et al., 2011; PETERSEN et al., 2012). Entretanto, um fator crucial para a melhoria de desempenho de um músculo esquelético após o exercício é o período de descanso para sua total recuperação. Mcardle; Katch; Katch, (2010) apontam que um período mínimo necessário para recuperação do músculo exercitado em intensidades moderadas e altas é de 48 horas. O protocolo de treinamento proposto neste estudo é padronizado na literatura (BARAUNA et al., 2005, 2007, 2008), entretanto, a

musculatura exercitada não possui tempo hábil para uma recuperação adequada, inclusive, sendo este fator relacionado com promoção de atrofia muscular, devido ao acúmulo de radicais livres e inibição de enzimas pró-hipertróficas no músculo esquelético (ALVES SOUZA et al., 2014).

Sendo assim, nós acreditamos que, neste modelo de treinamento proposto em nosso estudo, a capacidade antioxidante dos flavonoides presentes no EEM, foi peça chave para manter os níveis de radicais livres controlados e assim fazer com que os animais do grupo suplementado com 150mg/kg fossem capazes de produzir mais força que os animais apenas treinados.

Outro protocolo utilizado, o teste de resistência muscular, foi realizado com o objetivo de compreender se a suplementação com o EEM era capaz de melhorar o desempenho anaeróbico dos animais. Como este teste mimetizou o mesmo modelo de exercício utilizado nas 4 semanas de treinamento, era esperado que todos os grupos treinados apresentassem respostas melhores que o GC, porém, além disso, observamos que o GTEM150 realizou mais repetições que os demais grupos. Para tentarmos compreender os mecanismos envolvidos nesta resposta, realizamos a mensuração da glicemia e lactatemia pré, imediatamente após e 15' após o término do teste de resistência muscular.

Imediatamente após o término do teste, observamos uma redução da glicemia em todos os grupos quando comparados aos seus valores pré-teste. Este resultado nos confirma que os animais foram levados a uma condição predominantemente anaeróbica, uma vez que a glicose disponível foi rapidamente utilizada na tentativa de manter os níveis energéticos. Corroborando, neste mesmo momento, observamos que todos os grupos tiveram aumento na concentração plasmática de lactato. Um ponto que deve ser chamado atenção é que o GTEM150 apresentou menor resposta hipoglicemiante imediatamente após o exercício e consequente menor resposta hiperglicemiante compensatória 15' pós-teste quando comparada ao controle. Isto demonstra que este grupo foi capaz de melhorar a manutenção dos níveis glicêmicos quando comparado com os animais sedentários.

Em relação aos níveis de lactato, inicialmente é importante enfatizar que, fisiologicamente, a sua produção é diretamente relacionada aos níveis de glicose. Durante a glicólise, o nosso corpo consegue quebrar a glicose em dois piruvatos, entretanto, em situações de maior demanda energética, com a aceleração da glicólise, o nosso organismo não é capaz de utilizar todos os piruvatos produzidos de maneira aeróbica, desta forma, o organismo recorre a um processo anaeróbico para conversão do piruvato em lactato. Vale ressaltar que a prática

regular de exercícios físicos é uma excelente ferramenta para aumentar a capacidade de suportar maiores concentrações de lactato (TANAKA; SWENSEN, 1998), como também é para acelerar a remoção do lactato acumulado nos músculos e corrente sanguínea (DONOVAN; BROOKS, 1983).

Os nossos resultados apontam que os animais suplementados com EEM 150mg/kg tiveram uma menor redução dos níveis glicêmicos imediatamente após o exercício. Como descrito acima, a produção de lactato é diretamente proporcional com a glicólise, desta forma, acreditamos que os animais suplementados com 150mg/kg do EEM tenham tido uma melhor performance no protocolo de resistência muscular pois eles conseguiam manter a atividade sem que houvesse acidose láctica na musculatura exercitada. Além disso, parece que o EEM 150mg/kg auxiliou de alguma forma no *clearance* do lactato, fazendo com que os animais deste grupo se recuperassem mais rápido que os dos outros grupos.

Ademais, outro fator que pode ter influenciado no desempenho do GTEM150 é a capacidade dos flavonoides em acelerar a recuperação do músculo esquelético após um estímulo de exercício resistido (MALAGUTI; ANGELONI; HRELIA, 2013). Em nossos experimentos, observamos que os animais GTEM150 apresentavam uma menor concentração enzimática de CK e LDH. A CK é uma enzima extremamente importante no diagnóstico de lesões musculares, ademais sabe-se que a prática de exercícios resistidos é capaz de promover micro rupturas nas fibras musculares, desta forma, níveis elevados de CK estão relacionados logo após uma lesão muscular ter ocorrido (RODRIGUES et al., 2010). Já a LDH é uma enzima menos específica, pois a mesma se mantém em níveis elevados mesmo depois de vários dias do estímulo estressor (CLARKSON; THOMPSON, 2000).

Sumners et al., (2011) e Trombold et al., (2011) avaliaram o efeito do extrato da folha de cereja montmorency e do suco concentrado de romã, respectivamente, na redução do dano muscular induzido por exercício resistido. Ambos os suplementos utilizados, são ricos em flavonoides e sua utilização promoveu uma significativa redução nos níveis de marcadores bioquímicos de lesão muscular, como o LDH e CK. Desta forma, nós acreditamos que o EEM tenha acelerado a recuperação dos músculos dos animais suplementados com 150mg/kg e que isso tenha sido crucial para a melhoria de desempenho observada no teste de resistência muscular.

Uma outra potente ação dos flavonoides é a capacidade antioxidante (PIETTA, 2000). A produção de radicais livres imediatamente após ao término de uma sessão de treinamento resistido ainda não é consenso na literatura, uma vez que existem estudos apontando que há

aumento (MCBRIDE et al., 1998; HOFFMAN et al., 2007) e outros mostrando que não há alterações neste parâmetro (RAMEL; WAGNER; ELMADFA, 2004; DIXON et al., 2006). Esta discrepância nos resultados se dá devido as divergências metodológicas encontradas nos estudos acerca da intensidade, do volume e da amostra estudada. É fato que moderada/alta intensidade tem a capacidade de promover maiores microlesões nas fibras musculares recrutadas no exercício, ademais, apesar de nestas intensidades a demanda energética ser mantida de forma prioritária pelas vias anaeróbicas, outros mecanismos são postulados para que este tipo de treinamento promova aumento do stress oxidativo, dentre eles podemos citar: 1. Auto-oxidação das catecolaminas; 2. Via da xantina oxidase, 3. Isquemia do músculo exercitado, entre outros (JI; LEICHTWEIS, 1997; CLARKSON; THOMPSON, 2000; MALM, 2001).

Entretanto, a literatura científica credencia que este possível efeito estimulatório dos exercícios resistidos na produção de espécies reativas de oxigênio seja capaz de promover, a longo prazo, uma adaptação fisiológica que permite ao organismo aumentar sua capacidade antioxidante (RADAK; CHUNG; GOTO, 2008). De fato, nossos resultados apontam para tal efeito, uma vez que todos os grupos treinados foram tiveram resposta preventiva contra a peroxidação lipídica, ademais, o EEM de 150mg/kg foi capaz de potencializar tal efeito. Corroborando com estes achados, observamos que uma das mais importantes enzimas antioxidantes do nosso organismo a SOD, teve sua atividade aumentada em todos os grupos treinados, justificando assim uma redução da peroxidação lipídica. Além disso, mais uma vez o EEM de 150mg/kg foi capaz de potencializar este efeito.

É senso comum que o exercício, seja ele aeróbico (KELLEY; KELLEY; VU TRAN, 2001; WHELTON et al., 2002; BRUNEAU et al., 2016) ou resistido (DIXON et al., 2006; MACEDO et al., 2016; MOTA et al., 2017) são uma excelente ferramenta no controle da pressão arterial e frequência cardíaca. Diversos os mecanismos são postulados para explicar esta resposta protetora do exercício. Macedo et al., (2016) aponta que o treinamento resistido é capaz de aumentar a biodisponibilidade de óxido nítrico e reduzir a modulação simpática para o coração, promovendo assim, bradicardia e hipotensão mesmo em repouso. Ademais, diversos estudos apontam que os flavonoides são potentes anti-hipertensivos (MOLINE et al., 2000; HODGSON, 2006; CLARK; ZAHRAKKA; TAYLOR, 2015). Nossos resultados apontam que todos os grupos treinados tiveram uma redução da PA e FC, independente da suplementação ou não com EEM. Sendo assim, nossos resultados sugerem que o treinamento resistido *per si* foi uma ferramenta plenamente capaz de promover uma cardioproteção.

Como a *Erythroxylum mucronatum* (Benth.) ainda não é uma espécie muito avaliada cientificamente, nós investigamos se o EEM causava alguma hepatotoxicidade nos animais que haviam sido suplementados. Em suma, nossos resultados não apontaram nenhuma diferença para a atividade de ALT e AST, duas enzimas indicadoras de dano hepático (GIANNINI et al., 1999; NYBLOM, 2004), permitindo, desta forma, sugerirmos que a suplementação de EEM não foi tóxica para os animais.

7. CONCLUSÃO

A suplementação com EEM foi capaz de reduzir a gordura corporal, além de aumentar a força e resistência muscular. Estes efeitos parecem estar diretamente relacionados a capacidade antioxidante e preventiva de lesões que o EEM apresentou. Em suma, nossos resultados apontam para um efeito positivos acerca da suplementação com EEM, porém, apenas na dose de 150mg/kg na melhoria do desempenho físico de animais treinados com exercícios resistidos.

8. REFERÊNCIAS

- AGUILÓ, A. et al. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 14, n. 6, p. 319–325, jun. 2003.
- AKHLAGHI, M.; BANDY, B. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia-reperfusion injury. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 46, n. 3, p. 309–317, mar. 2009.
- ALBUQUERQUE, M. M. Avaliação do consumo de suplementos alimentares nas academias de Guará-DF. **RBNE - Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 6, n. 32, 13 maio 2012.
- ALVES SOUZA, R. W. et al. Resistance training with excessive training load and insufficient recovery alters skeletal muscle mass-related protein expression. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 28, n. 8, p. 2338–2345, ago. 2014.
- AMMAR, A. et al. Pomegranate Supplementation Accelerates Recovery of Muscle Damage and Soreness and Inflammatory Markers after a Weightlifting Training Session. **PloS One**, v. 11, n. 10, p. e0160305, 2016.
- AMMAR, A. et al. Effects of Pomegranate Juice Supplementation on Oxidative Stress Biomarkers Following Weightlifting Exercise. **Nutrients**, v. 9, n. 8, 29 jul. 2017.
- ANDRADE, L. DE A. et al. CONSUMO DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES POR PACIENTES DE UMA CLÍNICA DE NUTRIÇÃO ESPORTIVA DE SÃO PAULO. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 20, n. 3, p. 27–36, 13 nov. 2012.
- ASHTON, T. et al. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 77, n. 6, p. 498–502, maio 1998.
- BAKER, D. G.; NEWTON, R. U. Comparison of Lower Body Strength, Power, Acceleration, Speed, Agility, and Sprint Momentum to Describe and Compare Playing Rank among Professional Rugby League Players. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 22, n. 1, p. 153–158, jan. 2008.

BALSOM, P. D. et al. Creatine supplementation per se does not enhance endurance exercise performance. **Acta Physiol Scand**, v. 149, n. 4, p. 521–3, 1993.

BARAUNA, V. G. et al. CARDIOVASCULAR ADAPTATIONS IN RATS SUBMITTED TO A RESISTANCE-TRAINING MODEL. **Clinical and experimental pharmacology and physiology**, v. 32, n. 4, p. 249–254, 2005.

BARAUNA, V. G. et al. Effects of Resistance Training on Ventricular Function and Hypertrophy in a Rat Model. **Clinical Medicine & Research**, v. 5, n. 2, p. 114–120, 6 jan. 2007.

BARAUNA, V. G. et al. AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 295, n. 2, p. R381–R387, 1 ago. 2008.

BEPPU, S. R. G.; BARROS, A. DA S.; JUNIOR, J. M. Motivos que levam as pessoas a escolher e a permanecer na prática da Musculação. **Anais... VII Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar CESUMAR–Centro Universitário de Maringá Maringá–PR**, 2011.

BING, Y.; ZHAOBAO, W. Effects of Ginkgo Biloba Extract on Free Radical Metabolism of Liver in Mice During Endurance Exercise. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, v. 7, n. 4, p. 291–295, 3 jul. 2010.

BLUME, J.; KIESER, M.; HÖLSCHER, U. [Placebo-controlled double-blind study of the effectiveness of Ginkgo biloba special extract EGb 761 in trained patients with intermittent claudication]. **VASA. Zeitschrift für Gefasskrankheiten**, v. 25, n. 3, p. 265–274, 1996.

BOHM, B. A.; PHILLIPS, D. W.; GANDERS, F. R. Flavonoids of Erythroxylum rufum and Erythroxylum ulei. **Journal of Natural Products**, v. 44, n. 6, p. 676–679, 1981.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 7 maio 1976.

CARE, T. I. P. N. Algumas considerações sobre a utilização de modalidades terapêuticas não tradicionais pelo enfermeiro na assistência de enfermagem psiquiátrica. **outubro**, v. 13, n. 5, p. 737–42, 2005.

CARRILHO, L. H. Benefícios da utilização da proteína do soro de leite Whey Protein. **RBNE-Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 7, n. 40, 2013.

CHEN, Z. et al. Metabolism of Flavonoids in Human: A Comprehensive Review. **Current Drug Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 48–61, 1 jan. 2014.

CHENG, H. et al. (-)-Epicatechin regulates blood lipids and attenuates hepatic steatosis in rats fed high-fat diet. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 11, nov. 2017.

CLARKSON, P. M.; THOMPSON, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 2 Suppl, p. 637S–46S, ago. 2000.

COOMBES, J. S.; HAMILTON, K. L. The Effectiveness of Commercially Available Sports Drinks. **Sports Medicine**, v. 29, n. 3, p. 181–209, 1 mar. 2000.

CRUZ, A. P. G. Avaliação do efeito da extração e da micro filtração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante. **Rio de Janeiro: UFRJ/IQ**, 2008.

DE SIQUEIRA NOGUEIRA, F. R.; SOUZA, A.; BRITO, A. Prevalência do uso e efeitos de recursos ergogênicos por praticantes de musculação nas academias brasileiras: uma revisão sistematizada. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 18, n. 1, p. 16–30, 2013.

DEER, F. **Sustainable well-being: concepts, issues and educational practices**. Winnipeg, Canada: Education for Sustainable Well-Being Press, 2014.

DIXON, C. B. et al. The effect of acute resistance exercise on serum malondialdehyde in resistance-trained and untrained collegiate men. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 20, n. 3, p. 693–698, ago. 2006.

DONNELLY, J. E. et al. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 2, p. 459–471, fev. 2009.

DONOVAN, C. M.; BROOKS, G. A. Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 244, n. 1, p. E83–E92, 1 jan. 1983.

DOS SANTOS, M. Â. A.; DOS SANTOS, R. P. Uso de suplementos alimentares como forma de melhorar a performance nos programas de atividade física em academias de ginástica. **Revista Paulista de Educação Física**, v. 16, n. 2, p. 174–185, 2017.

ERSKINE, R. M. et al. Whey protein does not enhance the adaptations to elbow flexor resistance training. 2012.

EVANS, W. J. Vitamin E, vitamin C, and exercise—. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 2, p. 647S–652S, 1 ago. 2000.

FAYH, A. P. T. et al. Consumo de suplementos nutricionais por frequentadores de academias da cidade de Porto Alegre. **Rev Bras Ciênc Esporte**, v. 35, n. 1, p. 27–37, 2013.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. **Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing**. Special Features. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/35041687>>. Acesso em: 19 fev. 2018.

FONTES, M. T. et al. Resistance exercise acutely enhances mesenteric artery insulin-induced relaxation in healthy rats. **Life Sciences**, v. 94, n. 1, p. 24–29, jan. 2014.

FUSCO, D. et al. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. **Clinical Interventions in Aging**, v. 2, n. 3, p. 377–387, set. 2007.

GABRIEL, D. A.; KAMEN, G.; FROST, G. Neural adaptations to resistive exercise: mechanisms and recommendations for training practices. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 36, n. 2, p. 133–149, 2006.

GIANNINI, E. et al. Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 44, n. 6, p. 1249–1253, jun. 1999.

GIODA, C. R. et al. Cardiac oxidative stress is involved in heart failure induced by thiamine deprivation in rats. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 298, n. 6, p. H2039–2045, jun. 2010.

GOMES, G. S. et al. CARACTERIZAÇÃO DO CONSUMO DE SUPLEMENTOS NUTRICIONAIS EM PRATICANTES DE ATIVIDADE FÍSICA EM ACADEMIAS. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 41, n. 3, p. 327–331, 30 set. 2008.

GOMEZ-CABRERA, M.-C.; DOMENECH, E.; VIÑA, J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 44, n. 2, p. 126–131, 15 jan. 2008.

GRAHAM, T. E. Caffeine and exercise. **Sports medicine**, v. 31, n. 11, p. 785–807, 2001.

GROUSSARD, C. et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 89, n. 1, p. 14–20, mar. 2003.

HÄKKINEN, K. et al. Changes in electromyographic activity, muscle fibre and force production characteristics during heavy resistance/power strength training in middle-aged and older men and women. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 171, n. 1, p. 51–62, 1 jan. 2001.

HALLAK, A.; FABRINI, S. P.; PELUZIO, M. DO C. G. Avaliação do consumo de suplementos nutricionais em academias da zona sul de Belo Horizonte, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 1, n. 2, p. 7, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. [s.l.] Oxford University Press, 2015.

HALSTED, NULL. Dietary supplements and the american journal of clinical nutrition(1). **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 2, p. 399–400, fev. 2000.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Phenolic compounds in fruits - an overview: Phenolic compounds in fruits. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023–2044, out. 2012.

HIRSCHBRUCH, M. D.; FISBERG, M.; MOCHIZUKI, L. Consumo de suplementos por jovens freqüentadores de academias de ginástica em São Paulo. **Revista Brasileira de medicina do Esporte**, 2008a.

HOFFMAN, J. R. et al. Comparison of low- and high-intensity resistance exercise on lipid peroxidation: role of muscle oxygenation. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 21, n. 1, p. 118–122, fev. 2007.

ITO, Y. et al. Effect of tea catechins on body fat accumulation in rats fed a normal diet. **Biomedical Research (Tokyo, Japan)**, v. 29, n. 1, p. 27–32, fev. 2008.

ITOH, H. et al. Vitamin E supplementation attenuates leakage of enzymes following 6 successive days of running training. **International Journal of Sports Medicine**, v. 21, n. 5, p. 369–374, jul. 2000.

JENTJENS, R. L. P. G. et al. Addition of protein and amino acids to carbohydrates does not enhance postexercise muscle glycogen synthesis. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 2, p. 839–846, 1 ago. 2001.

JI, L. L.; LEICHTWEIS, S. Exercise and oxidative stress: Sources of free radicals and their impact on antioxidant systems. **Age**, v. 20, n. 2, p. 91–106, abr. 1997.

JOHNSON, E. L.; SCHMIDT, W. F. Flavonoids as chemotaxonomic markers for *Erythroxylum australe*. **Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences**, v. 59, n. 11–12, p. 769–776, dez. 2004.

KIM, S. H. et al. Effects of Panax ginseng extract on exercise-induced oxidative stress. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 45, n. 2, p. 178–182, jun. 2005.

KISNER, C.; COLBY, L. A.; BORSTAD, J. **Therapeutic Exercise: Foundations and Techniques**. [s.l.] F.A. Davis, 2017.

KOMI, P. V. Training of muscle strength and power: interaction of neuromotoric, hypertrophic, and mechanical factors. **International Journal of Sports Medicine**, v. 7 Suppl 1, p. 10–15, jun. 1986.

KUNWAR, A.; PRIYADARSINI, K. I. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. **Journal of Medical & Allied Sciences**, v. 1, n. 2, p. 53, 2011.

LIM, K. et al. Dietary red pepper ingestion increases carbohydrate oxidation at rest and during exercise in runners. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 29, n. 3, p. 355–361, mar. 1997.

LIMA, F. O.; BEZERRA, A. S. Flavonoides e radicais livres. **Disciplinarum Scientia | Naturais e Tecnológicas**, v. 13, n. 1, p. 111–124, 2012.

LIMA, L. V. et al. Associating high intensity and modulated frequency of TENS delays analgesic tolerance in rats. **European Journal of Pain**, v. 19, n. 3, p. 369–376, 1 mar. 2015.

LU, C. et al. Green tea polyphenols reduce body weight in rats by modulating obesity-related genes. **PloS One**, v. 7, n. 6, p. e38332, 2012.

MACEDO, F. N. et al. Increased Nitric Oxide Bioavailability and Decreased Sympathetic Modulation Are Involved in Vascular Adjustments Induced by Low-Intensity Resistance Training. **Frontiers in Physiology**, v. 7, 2016.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 429–438, 2002.

MALAGUTI, M.; ANGELONI, C.; HRELIA, S. Polyphenols in Exercise Performance and Prevention of Exercise-Induced Muscle Damage. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, 2013.

MALM, C. Exercise-induced muscle damage and inflammation: fact or fiction? **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 171, n. 3, p. 233–239, mar. 2001.

MARGARITIS, I.; ROUSSEAU, A. S. Does physical exercise modify antioxidant requirements? **Nutrition Research Reviews**, v. 21, n. 1, p. 3–12, jun. 2008.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance**. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2010.

MCBRIDE, J. M. et al. Effect of resistance exercise on free radical production. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 30, n. 1, p. 67–72, jan. 1998.

MIYAZAKI, H. et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 84, n. 1–2, p. 1–6, fev. 2001.

MORILLAS-RUIZ, J. et al. The effects of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress: results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists. **European Journal of Applied Physiology**, v. 95, n. 5–6, p. 543–549, dez. 2005.

MUKHERJEE, P.; VENKATESH, P.; PONNUSANKAR, S. Ethnopharmacology and integrative medicine - Let the history tell the future. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 1, n. 2, p. 100, 2010.

NAGAO, T. et al. Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malondialdehyde-modified LDL in men. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 1, p. 122–129, 2005.

NAGAO, T.; HASE, T.; TOKIMITSU, I. A Green Tea Extract High in Catechins Reduces Body Fat and Cardiovascular Risks in Humans. **Obesity**, v. 15, n. 6, p. 1473–1483, 1 jun. 2007.

NANJO, F.; HARA, Y.; KIKUCHI, Y. Effects of Tea Polyphenols on Blood Rheology in Rats Fed a High-Fat Diet. In: HO, C.-T. et al. (Eds.). . **Food Phytochemicals for Cancer Prevention II**. Washington, DC: American Chemical Society, 1994. v. 547p. 76–82.

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, n. 4, p. 503–515, 15 ago. 2010.

NYBLOM, H. HIGH AST/ALT RATIO MAY INDICATE ADVANCED ALCOHOLIC LIVER DISEASE RATHER THAN HEAVY DRINKING. **Alcohol and Alcoholism**, v. 39, n. 4, p. 336–339, 1 jul. 2004.

OH, J.-K. et al. Effect of supplementation with Ecklonia cava polyphenol on endurance performance of college students. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 20, n. 1, p. 72–79, fev. 2010.

PALAZZETTI, S. et al. Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. **Canadian Journal of Applied Physiology = Revue Canadienne De Physiologie Appliquee**, v. 28, n. 4, p. 588–604, ago. 2003.

PEREIRA, R. F.; LAJOLO, F. M.; HIRSCHBRUCH, M. D. Consumo de suplementos por alunos de academias de ginástica em São Paulo. **Revista de Nutrição**, 2003.

PETERSEN, A. C. et al. Infusion with the antioxidant N-acetylcysteine attenuates early adaptive responses to exercise in human skeletal muscle. **Acta Physiologica (Oxford, England)**, v. 204, n. 3, p. 382–392, mar. 2012.

PIETTA, P.-G. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035–1042, jul. 2000.

PLANTS, O. M.; MEDICINALES, P. Y. C. D. P. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. 2011.

RADAK, Z.; CHUNG, H. Y.; GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radical Biology and Medicine**, Free Radicals in Exercise. v. 44, n. 2, p. 153–159, 15 jan. 2008.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, jul. 2006.

RAMEL, A.; WAGNER, K.-H.; ELMADFA, I. Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. **European Journal of Nutrition**, v. 43, n. 1, p. 2–6, fev. 2004.

RAMOS, D. C. DE C.; NAVARRO, F. perfil alimentar e antropométrico de praticantes de musculação na cidade de Brasília. **RBNE - Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 6, n. 32, 13 maio 2012.

RISTOW, M. et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 21, p. 8665–8670, 26 maio 2009.

RODRIGUES, B. M. et al. Creatine kinase and lactate dehydrogenase responses after upper-body resistance exercise with different rest intervals. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 24, n. 6, p. 1657–1662, jun. 2010.

ROESLER, R. et al. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 53–60, mar. 2007.

RUFATTO, S. M. D. B. S. Nutricao e Saude. 2013.

SALE, D. G. Neural Adaptation to Strength Training. In: KOMI, P. V. (Ed.). . **Strength and Power in Sport**. [s.l.] Blackwell Science Ltd, 2003. p. 281–314.

SALEH, S. R. et al. **Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of Mitragyna speciosa and Erythroxylum cuneatum**. 2012 IEEE Symposium on Humanities, Science and Engineering Research. **Anais...** In: 2012 IEEE SYMPOSIUM ON HUMANITIES, SCIENCE AND ENGINEERING RESEARCH. jun. 2012

SANTOS-SILVA, A. et al. Leukocyte activation, erythrocyte damage, lipid profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescents. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 306, n. 1–2, p. 119–126, abr. 2001.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**. Boca Raton: CRC Press, 2003.

SILVEIRA, P. F.; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Rev Bras Farmacogn**, v. 18, n. 4, p. 618–26, 2008.

SIMOES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. [s.l.] Editora da UFSC, 2007.

SOUZA DE O, F. DE F. et al. Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of Extracts of *Erythroxylum suberosum* A.St.-Hil (Erythroxylaceae). **Research Journal of Phytochemistry**, v. 9, n. 2, p. 68–78, 1 fev. 2015.

STEBBING, J.; HART, C. A. Antioxidants and cancer. **The Lancet Oncology**, v. 12, n. 11, p. 996, 1 out. 2011.

STROBEL, N. A. et al. Antioxidant supplementation reduces skeletal muscle mitochondrial biogenesis. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 43, n. 6, p. 1017–1024, jun. 2011.

SUMNERS, D. P. et al. Montmorency cherry juice reduces muscle damage caused by intensive strength exercise. 2011.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; NAKANO, S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 24, n. 8, p. 881–886, ago. 1992.

TANAKA, H.; SWENSEN, T. Impact of Resistance Training on Endurance Performance. **Sports Medicine**, v. 25, n. 3, p. 191–200, 1 mar. 1998.

TOULSON, M. I. Suplementos nutricionais: histórico, classificação, legislação e uso em ambiente esportivo. 2009.

TROG, S. D.; TEIXEIRA, E. Uso de suplementação alimentar com proteínas e aminoácidos por praticantes de musculação do município de Irati-PR. **Cinergis**, v. 10, n. 1, 2 mar. 2010.

TROMBOLD, J. R. et al. The effect of pomegranate juice supplementation on strength and soreness after eccentric exercise. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 25, n. 7, p. 1782–1788, 2011.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VIEIRA, J. M. et al. Caffeine prevents high-intensity exercise-induced increase in enzymatic antioxidant and Na⁺-K⁺-ATPase activities and reduction of anxiolytic like-behaviour in rats. **Redox Report: Communications in Free Radical Research**, v. 22, n. 6, p. 493–500, nov. 2017.

VISCONTI, R.; GRIECO, D. New insights on oxidative stress in cancer. **Current Opinion in Drug Discovery & Development**, v. 12, n. 2, p. 240–245, mar. 2009.

WIBRAND, K. et al. Enhanced cognitive function and antidepressant-like effects after krill oil supplementation in rats. **Lipids Health Dis**, v. 12, n. 6, 2013.

WILLIAMS, M. H. **Nutrição para saúde, condicionamento físico e desempenho esportivo**. [s.l.] Manole, 2002.

WING, R. R.; PHELAN, S. Long-term weight loss maintenance. **The American journal of clinical nutrition**, v. 82, n. 1, p. 222S–225S, 2005.

XIAOMING, W.; LING, L.; JINGHANG, Z. Antioxidant and Anti-Fatigue Activities of Flavonoids From Puerariae Radix. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, v. 9, n. 2, p. 221–227, 29 dez. 2011.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555–559, 1 mar. 1999.

9. ANEXO A

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COORDENAÇÃO DE PESQUISA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação do desempenho físico de ratos suplementados com *erythroxylum caatingae***", registrada com o nº **79/2015** sob responsabilidade do **Prof. Dr. Lucindo José Quintans Júnior** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe, em reunião de **28/03/2016**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 04/2016, Término: 02/2018
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogêneo
Nº de animais	80
Peso/Idade	150-200g / 90 dias
Sexo	M
Origem	Biotério Setorial da fisiologia-UFS

Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA

Coordenador do CEPA/UFS

Cidade Universitária "Prof. Aloísio de Campos"
 Jardim Rosa Elze – São Cristóvão – SE
 49100-000
 Fones: 3212 6661 / 6606