

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE
BIOMARCADORES DE FADIGA E DESEMPENHO NEUROMUSCULAR**

Álvaro Sosa Machado

Uruguaiana, RS, Brasil

2018

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE
BIOMARCADORES DE FADIGA E DESEMPENHO NEUROMUSCULAR

Por

Álvaro Sosa Machado

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Bioquímica da
Universidade Federal do Pampa
(UNIPAMPA, RS), como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioquímica

Área de concentração: Química e
Bioquímica de Produtos
Biologicamente Ativos

Orientador: Prof. Dr. Felipe Pivetta Carpes

Coorientadora: Prof. Dra. Mauren Assis de Souza

Uruguaiana, RS, Brasil

2018

Universidade Federal do Pampa
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE
BIOMARCADORES DE FADIGA E DESEMPENHO NEUROMUSCULAR

elaborada por
Álvaro Sosa Machado
Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioquímica

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dra. Mauren Assis de Souza

(Presidente, Coorientadora)

Prof^a. Dr^a. Liane da Silva de Vargas (UFRGS)

Prof. Dr. Leonardo Magno Rambo (UNIPAMPA)

Uruguaiana, RS, Brasil

2018

Mo ya sọto si Óriṣa'nlá baba mi. Epa baba!

Aos meus pais Nilvo e Jacqueline

Ao meu orientador Felipe

e aos meus colegas do grupo de pesquisa

em Neuromecânica Aplicada (GNAP)

AGRADECIMENTOS

Ao fim desta etapa da minha formação acadêmica, aproveito para reforçar meus agradecimentos aos meus pais Nilvo e Jacqueline e meu avô Marcos por garantirem um terreno firme onde eu possa dar meus passos. Que os Orixás retribuam com uma próspera e alegre longevidade.

Menciono com muito carinho o meu profundo agradecimento à minha namorada Verônica, que me incentivou sobremaneira e hoje comemora junto a mim, dando especial sentido a essa conquista.

Agradeço imensamente ao meu orientador Felipe Carpes por todas as oportunidades que me tem concedido, pela compreensão e por ter me aconselhado quando as dificuldades pareciam-me intransponíveis. Uso desta vitória pessoal como testemunho da tua habilidade em extrair o melhor de cada um que te procura. Obrigado!

À minha co-orientadora Mauren por ter me capacitado e indicado caminhos para a realização do presente trabalho. Teu legado intelectual na UNIPAMPA permanecerá tal qual permanecem os laços afetivos.

Às professoras Pâmela Carpes, Daiana Ávila e Francielli Cibin pelo suporte financeiro e material, mesmo em uma situação de imorais cortes orçamentários. A atitude de colaboração é uma inspiração a todos nós. Ao Caetano Lazzari pelo suporte técnico.

Ao meu amigo e principal interlocutor Willian da Silva por ser um camarada de todas as horas, disposto em tempo integral a avançar em todas as etapas do estudo. Fica o meu compromisso de retribuir sempre que precisares. Estendo esse agradecimento ao Líver Priario, Marcos Kunzler,

Juliana Capodónico e Jefferson de Menezes por terem auxiliado em algum momento na realização desse estudo. Também às colegas Priscila Maciel, Regina Santiago e Andressa Silveira por auxiliarem na coleta de sangue. E em especial à minha madrinha Berenice Machado que esteve disponível nos horários e dias mais inconvenientes.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pelo auxílio financeiro, na forma de bolsa de estudos.

Ao Grupo de Pesquisa em Neuromecânica Aplicada (GNAP), minha segunda casa, do qual faço parte com muita satisfação. Que venham outros muitos e que sejam igualmente frutíferos.

À Universidade Federal do Pampa por me proporcionar ser o primeiro de minha família a concluir um curso de nível superior, e agora ao PPG Bioquímica por me permitir ser o primeiro a concluir a pós-graduação. Que essa mudança de horizontes capilarize em nossa sociedade.

Tudo tornou-se mais prazeroso e menos difícil graças à generosidade de cada um dos citados aqui. Meu compromisso, em contrapartida, é usar deste título com sabedoria, produzindo ciência de qualidade e passando adiante o conhecimento que desenvolvi aqui.

Obrigado a todos!

“Não existe estrada real para a ciência; só
poderá alcançar os seus cumes luminosos
quem não receie fatigar-se em escalar as
suas veredas escarpadas.”

Karl Marx

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Bioquímica

Universidade Federal do Pampa

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE BIOMARCADORES DE FADIGA E DESEMPENHO NEUROMUSCULAR

Autor: Álvaro Sosa Machado

Orientador: Dr. Felipe Pivetta Carpes

Local e data da defesa: Uruguaiana, 23 de Fevereiro de 2018

A prática regular de exercício intenso é benéfica à saúde, mas quando realizada em dias consecutivos pode intensificar os efeitos deletérios da fadiga muscular, podendo gerar perda de atividade neuromuscular, aumento do dano às fibras musculares e incremento do risco de lesão. Estratégias para inibir ou retardar estes efeitos da fadiga, principalmente o estresse oxidativo, são desejáveis. Nesse contexto, o extrato de chá verde (ECV), derivado da *Camellia sinensis*, pode ser útil, visto que tem conhecidas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Neste estudo, nosso objetivo foi verificar se a suplementação com extrato de chá verde beneficia marcadores de dano muscular, estresse oxidativo e desempenho em condição de fadiga. Dezesesseis atletas amadores treinados, todos homens, foram testados durante exercício de

ciclismo em duas condições de exercício: sem suplementação sem fadiga; e com suplementação (placebo, n=8; extrato de chá verde 500 mg/dia durante 15 dias, n=8) com fadiga (extensão de joelhos até a exaustão induzida em dois dias consecutivos). Coletas sanguíneas para determinação de marcadores de dano muscular e estresse oxidativo, e medidas de eletromiografia, para determinação da ativação elétrica neuromuscular dos vastos laterais, além de parâmetros de treinamento e frequência cardíaca, foram quantificados e comparados entre os grupos nas diferentes condições. Os valores normalizados de eletromiografia *root mean square* e mediana da frequência da eletromiografia não diferiram entre a pedalada sem e com fadiga no grupo chá verde, enquanto que o grupo placebo apresentou prejuízo na contratilidade muscular decorrente da fadiga. O maior custo de frequência cardíaca confirma que essa redução na EMG foi combinada por um aumento do esforço na tarefa. O ECV também foi capaz de inibir dano muscular e evitar o estresse oxidativo, ao contrário do grupo placebo na comparação entre as pedaladas sem e com fadiga. Dessa forma, as propriedades antioxidantes do chá verde parecem evitar o dano muscular induzido pelo estresse oxidativo e preservar a contratilidade muscular de atletas submetidos à fadiga em dias consecutivos. Sendo assim, a suplementação com chá verde pode ser considerada como uma estratégia válida para o treinamento físico em tarefas extenuantes.

Palavras chave: *Camellia sinensis*; dano muscular; endurance; polifenóis; estresse oxidativo.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduation Program in Biochemistry
Federal University of Pampa

EFFECTS OF GREEN TEA EXTRACT SUPPLEMENTATION ON FATIGUE BIOMARKERS AND NEUROMUSCULAR PERFORMANCE

Author: Álvaro Sosa Machado

Advisor: Felipe Pivetta Carpes, PhD

Place and date: Uruguaiana, February 23th, 2018

The regular practice of intense physical exercise benefits health, but when the sessions are accomplished in consecutive day it might intensify some deleterious effects of muscle fatigue, which can impair efficiency, promote muscle damage and increase injury risk. The interest in strategies to avoid or delay such effects, especially the oxidative stress, are desirable. In this regard, the green tea extract, from *Camellia sinensis*, can be useful due to its recognized antioxidant and antiinflammatory properties. Here our purpose was to determine whether the supplementation with green tea extract can benefit markers of muscle damage, oxidative stress and performance in exercise under fatigue. Sixteen male athletes trained were evaluated in cycling exercise under two conditions: without supplementation and without fatigue, and supplemented (placebo n=8; extrato de chá verde, n=8, 500 mg/dia durante 15 dias) and with fatigue (knee extension until exhaustion in two consecutive days). BI

samples served to determine markers of muscle damage and oxidative stress. Electromyography was employed to monitor the muscle activation from vastus lateralis, as well as training parameters like heart rate, were quantified and compared between the groups and exercise conditions. Muscle activation did not differ between the cycling with and without fatigue in the green tea group, whereas in the placebo group there was a loss of contractility due to fatigue. A higher cost observed by the higher heart rate supports that reduction in the activation in the placebo group relies on the effort associated to the performance of the cycling exercise. Green tea supplementation was able to avoid increase in the muscle damage and oxidative stress in response to the exercise compared to the placebo group. Therefore, the properties of green tea seem to delay or avoid the muscle damage resultant of oxidative stress and preserves the contractility in athletes submitted to exercise under a fatigue state. As a conclusion, the supplementation with green tea can be considered a valid strategy in the physical training during extenuant tasks.

Keywords: *Camellia sinensis*; muscle damage; endurance; polyphenols; oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema do desenho experimental. Ambos os grupos cumpriram o mesmo cronograma. O pico de potência (Ppo) era realizado sempre no mínimo 4 dias antes da Pedalada 1. Para evitar efeito do aprendizado, metade dos sujeitos de cada grupo realizou os testes da Pedalada 1 após a Pedalada 2 com no mínimo 5 dias entre os testes. rpm: cadência de pedalada medida em rotações por minuto; Ppo: potência máxima produzida; VLD: vasto lateral direito; VLE: vasto lateral esquerdo; EMG: eletromiografia realizada para avaliar a ativação neuromuscular..... 40

Figura 2. Dados em média e dp de rms e mdf (% da gravação inicial) de ambos os grupos para cada momento de gravação em vasto lateral direito (vld) e vasto lateral esquerdo (vle). As linhas a e c de gráficos comparam os grupos nas condições sem e com fadiga. As linhas b e d mostram o efeito da fadiga para cada grupo. * significa $p < 0.05$ 47

Figura 3. Dados de creatina quinase (CK), peroxidação lipídica (TBARS) para ambos os grupos nas coletas pré pedalada sem fadiga (A), pós pedalada sem fadiga (B), pré pedalada com fadiga (C) e pós pedalada com fadiga (D); e coeficiente angular da frequência cardíaca (FC) com e sem fadiga * significa diferença entre os grupos; # significa maior que A e B; † significa maior que C. $P < 0,05$ 49

SUMÁRIO

PARTE I	16
1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
1.1. CICLISMO: PRÁTICA ESPORTIVA E PRÁTICA COMPETITIVA	16
1.2. FADIGA MUSCULAR	19
<i>1.2.1 Aspectos bioquímicos do processo de fadiga</i>	<i>23</i>
1.3 ESTRATÉGIAS PARA EVITAR OU MINIMIZAR A FADIGA MUSCULAR	26
2. DELIMITAÇÃO DO TEMA	29
3. OBJETIVOS	32
<i>3.1. Objetivo Geral</i>	<i>32</i>
<i>3.2. Objetivos específicos</i>	<i>32</i>
PARTE II	33
4. ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL	33
PARTE III	61
5. DISCUSSÃO	61
6. CONCLUSÕES	64
7. PERSPECTIVAS	65
8. REFERÊNCIAS	67
ANEXOS	76
ANEXO I – NORMAS DA REVISTA	76
ANEXO II – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA	88

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação de mestrado é organizada em três partes.

A primeira parte é composta pela fundamentação teórica e delimitação do tema desta pesquisa. Nesta parte estão descritos os temas centrais que fundamentam este estudo e a pergunta de pesquisa proposta, bem como sua justificativa, e os seus objetivos propostos.

A segunda parte é composta pelos elementos textuais que compõem um artigo científico original, que após tradução para o idioma Inglês, será submetido para publicação em um periódico de circulação internacional.

A terceira parte é composta por uma discussão geral dos resultados, onde tecemos comentários sobre particularidades do estudo, elencamos possíveis desdobramentos futuros e retomamos as conclusões e perspectivas de aplicação dos resultados.

Ao final, encontram-se as referências bibliográficas citadas na primeira e na terceira parte da dissertação, já que as referências da segunda parte já estão inclusas no artigo científico, e os anexos relevantes para esta dissertação.

PARTE I

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1. Ciclismo: prática esportiva e prática competitiva

Não é novidade que a prática de esportes é altamente recomendada em todas as faixas etárias e manter-se fisicamente ativo tem se mostrado como uma das estratégias mais eficazes para a manutenção da saúde e prevenção de diversas doenças. Embora os índices de sedentarismo ainda sejam altos no Brasil, resultando em obesidade de mais da metade da população, se tomarmos como exemplo os dados do Rio Grande do Sul junto ao Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, o engajamento em programas de atividade física tem aumentado.

Dentre as diferentes práticas físicas acessíveis a população, algumas se destacam por ter baixo custo, fácil acesso e não requerer condições muito particulares para a prática. Esse pode ser o caso da corrida de rua, por exemplo. Ainda assim, outros esportes ganham espaço. Alavancado também pelo papel que tem na mobilidade urbana, o ciclismo tem alcançado um papel de destaque, muito embora ainda com pouco apoio governamental para seu crescimento no Brasil, que ainda fica atrás de outros países da América Latina em termos de apoio ao desenvolvimento do ciclismo esportivo. A prática do ciclismo proporciona diversos benefícios à saúde, como a proteção cardiorrespiratória e a redução dos fatores de risco de desenvolvimento de

diversos tipos de câncer, e seus resultados positivos estendem-se desde a juventude até a velhice (Oja, Titze et al. 2011). Além disso, são confirmados os efeitos protetivos do ciclismo para a saúde mental, visto que contribui significativamente para o combate da ansiedade e depressão (Guszkowska 2004). Ainda, o ciclismo é também empregado como um modelo de exercício para investigação de processos relacionados ao treinamento físico, visto que o gesto esportivo é homogêneo (Bini, Dagnese et al. 2016), possui padrões bastante simétricos (Carpes, Mota et al. 2010), e se configura como uma tarefa relativamente simples para reprodução em laboratório (Mieras, Heesch et al. 2014).

O ciclismo recreacional é praticado por diversas pessoas das mais variadas idades, e atualmente o número de competições amadoras realizadas no Brasil tem fomentado também o ciclismo competitivo. No contexto competitivo, o ciclismo é um esporte que pode ser praticado em categoria individual ou em equipe. Independentemente da categoria, o desempenho do ciclista depende da sua capacidade individual de produzir potência ao aplicar força nos pedais, o que recruta diferentes musculaturas, mas principalmente a musculatura dos membros inferiores, sobretudo do quadríceps (Gregor and Wheeler 1994; Broker 2003; Burke 2003; Chapman, Vicenzino et al. 2006).

A produção da potência desejada vai depender da combinação entre o torque aplicado ao pedal e a cadência de pedalada, ou seja, o número de revoluções completadas pelo pedivela a cada minuto. Essa combinação foi investigada em um estudo prévio e discutida como um dos fatores mais importantes na manutenção da técnica de pedalada, onde o ciclista possui uma cadência preferida, e para manter sua potência no nível desejado, precisa

ajustar a cadência de pedalada de modo que a efetividade na aplicação de força não seja perdida (Rossato, Bini et al. 2008). Da mesma forma, as respostas na produção de torque e na cadência permitem investigar adaptações que acontecem *online* durante a prática, como a avaliação da potência, e de sua sustentação, em testes de carga constante e/ou exaustão (Diefenthaler, Coyle et al. 2012).

Quando o exercício deve ser sustentado, a ocorrência de uma redução na capacidade de transferir a força dos músculos para os pedais e, conseqüentemente, de produzir o torque necessário para realizar a propulsão na pedalada são decorrentes de um processo de fadiga. Esse processo pode ter origem periférica, ou seja, ocorrer por alterações metabólicas nos músculos, ou ter origem central, em decorrência da redução ou falha na capacidade do sistema nervoso central enviar os comandos motores para a ativação neuromuscular (Diefenthaler and Vaz 2008).

Servindo como modalidade esportiva amadora ou profissional, o ciclismo consiste em provas em que o participante tem de cobrir um determinado trajeto com menor tempo possível (Padilla, Mujika et al. 2000), o que leva vários sistemas fisiológicos à beira da exaustão, induzindo o sistema a um estado de fadiga. Essas adaptações agudas relacionadas com a fadiga são observadas na rotina de treinamento e de competições no ciclismo, em provas que apresentam percursos longos, que podem levar de três a cinco horas para serem completados, e em casos específicos, em provas no formato de volta, que duram mais de um dia. Neste tipo de competição, embora a intensidade sustentada seja moderada (Golich and Broker 1996), a exposição a estímulos em dias seguidos aumenta de maneira significativa a carga experimentada com

o exercício, o que sofre influência também de outros aspectos da competição, como o terreno, altimetria e condição do atleta no grupo (Padilla, Mujika et al. 2008). Isso faz com que a exposição repetida ao exercício intenso tenha um efeito que perdura após a competição ser terminada, e resulta em perdas não somente de rendimento, mas também em marcadores do nível de condicionamento físico, o que sem dúvida deve ser considerado em planos de treinamento (Rodríguez-Marroyo, Villa et al. 2017)

1.2. Fadiga muscular

Fadiga muscular é um conceito usado corriqueiramente para expressar uma condição resultante de uso intenso e repetido da musculatura esquelética (Totsuka, Nakaji et al. 2002). No entanto, a detecção da presença da fadiga requer a avaliação da falha em diferentes mecanismos de controle neural e neuromuscular, da incapacidade de ativar mecanismos específicos, da incapacidade de produzir ou sustentar níveis de força ao longo do tempo, e de alterações na ativação neuromuscular e na percepção de esforço (Enoka and Stuart 1992; Barry and Enoka 2007). Sendo assim, a capacidade de manter um nível desejado para produção de potência está condicionada pela capacidade de resistir à fadiga (Abbiss and Laursen 2005). Portanto, a fadiga é um processo que leva à perdas no desempenho esportivo, e a possibilidade de postergar seus efeitos é desejável para alcançar melhores resultados individuais ou obter melhor classificação em competições.

No ciclismo a fadiga pode ser verificada por meio de análises biomecânicas, que apontam alterações na execução do gesto motor e também em parâmetros de controle neuromuscular (Moritani, Muro et al. 1986; Bini, Carpes et al. 2008). Especificamente no ciclismo, alterações biomecânicas variam de acordo com a característica da prova, mas para todos os casos, os efeitos da fadiga podem ser verificados na magnitude, direção e sentido de aplicação das forças no pedal (Carpes, Rossato et al. 2007a; Diefenthaler, Coyle et al. 2012), no padrão de ativação muscular (Laplaud, Hug et al. 2006; Carpes, Diefenthaler et al. 2011) e, conseqüentemente, no desempenho esportivo (Diefenthaler and Vaz 2008).

Além de prejuízo no desempenho, a fadiga pode predispor os praticantes a lesões musculares, articulares e danos proprioceptivos (Hill, Higgins et al. 2016; Savage, Lay et al. 2017; Tam, Coetzee et al. 2017), afastando o indivíduo da prática esportiva (Tosovic, Than et al. 2016). Muitas das causas desse fenômeno podem estar situadas nas alterações bioquímicas decorrentes do exercício extenuante.

Existem várias teorias que buscam explicar a instalação da fadiga durante o exercício bem como suas implicações na capacidade de sustentar e de manter a qualidade dos movimentos exigidos para a atividade. Essas teorias foram organizadas por Abbiss and Laursen (2005) em uma revisão de literatura cuja conclusão aponta para o fato de os estudos propõem modelos reducionistas para explicar a fadiga no ciclismo, sendo necessária uma abordagem multifatorial, conforme o que também foi abordado por Enoka e colaboradores em dois estudos (Enoka and Stuart 1992; Barry and Enoka 2007).

Outro ponto que merece destaque ao analisarmos a literatura é o fato de que boa parte dos estudos enfatizam a fadiga como um evento de declínio ou perda da função muscular manifestada durante a prática do exercício (Enoka and Duchateau 2008), mas são pouco abordadas as repercussões tardias desse fenômeno no ciclismo. São poucos os relatos, e muitas vezes centrados em marcadores de rendimento limitados ao que é possível ser feito em campo para monitorar o desempenho de atletas (Rodríguez-Marroyo, Villa et al. 2017), sobre os efeitos durante e após a exposição ao estresse de vários dias de exercício. Mesmo que trabalhos prévios tenham demonstrado que efeitos da fadiga e do dano muscular nos dias seguintes sejam bastante pronunciados em atletas (Armstrong, Warren et al. 1991; Friden and Lieber 1992), também destaca-se que em indivíduos não-treinados a imposição súbita de exercícios extenuantes em dias consecutivos acaba por induzir uma redução de produção de força nos três dias seguintes (Stewart, Duhamel et al. 2008). Esse efeito cumulativo do exercício acarretando fadiga é um importante ponto de debate, especialmente considerando indivíduos fisicamente ativos, mas sem um treinamento específico, e que muitas vezes retomam rotinas de treinamento e acabam por se expor a sobrecargas de atividade que excedem suas capacidades físicas naquele momento.

Em um estudo com ciclistas submetidos a um protocolo de exercícios extenuantes e realizados em dias consecutivos, a mensuração de parâmetros oxidativos no sangue mostrou que no primeiro dia há aumento de produção de malondilaldeído, mas nos dias seguintes não há acúmulo dessas espécies e a diferença entre a produção pré e pós exercício tende a não ser significativa (Shing, Peake et al. 2007). Por outro lado, o mesmo estudo mostrou que o

status antioxidante total aumentou após exercício em todos os dias (Shing, Peake et al. 2007). Esses resultados sugerem que o exercício repetido causa uma condição de estresse oxidativo que, mesmo com pouco intervalo entre as sessões, busca ser contrabalançado pela melhora nas defesas antioxidantes. Porém, esse estudo não apresenta marcadores de dano e medidas de eficiência neuromuscular, o que compromete as conclusões quanto ao efeito da fadiga em dias consecutivos sobre o rendimento no exercício físico.

Essa preocupação com a perda de rendimento tem sido abordada no contexto da recuperação entre as sessões, pela investigação de estratégias como uso de roupas compressivas (Brophy-Williams, Driller et al. 2017; Goto, Mizuno et al. 2017). No entanto, pouco tem sido de fato demonstrado sobre evidências de que estratégias de recuperação possam prover informações relevantes tanto para o controle do treinamento quanto para o planejamento das estratégias de recuperação. Essa abordagem é importante porque vários esportes, dentre eles o ciclismo, têm a característica de impor sobre o praticante uma necessidade de produzir força muscular em mais de um dia de competição, como podemos observar no *Tour de France*, uma competição de endurance que dura 21 dias (Lucia, Hoyos et al. 2001), ou a *Vuelta a España*, uma prova com em média 22 dias e altas demandas físicas aos atletas (Rodríguez-Marroyo, Villa et al. 2017).

Muito embora competições como estas estejam distante da realidade dos ciclistas e praticantes de ciclismo no Brasil, os esportistas amadores estão envolvidos em atividades que também impõem altas cargas. Mesmo para atletas amadores, existem provas de longa duração e com esforços em dias repetidos, como por exemplo, campeonatos estaduais, onde muitas vezes duas

provas acontecem em dias seguidos, ou até mesmo eventos como desafios de longa distância, como por exemplo, provas de ciclismo de longa distância (AUDAX) que variam de 100, 200, 300, 500 e até 1000 km ou mais, que são percorridas em dias seguidos.

1.2.1 Aspectos bioquímicos do processo de fadiga

A abordagem clássica da fadiga, sob uma perspectiva de mecanismos bioquímicos, é a de que com a fadiga há redução no número de ligações das pontes-cruzadas, o que ocorre como manifestação da ausência de energia oferecida pela hidrólise de ATP, seja pela via anaeróbia ou pela aeróbia (Hultman, Spriet et al. 1986). Isso explicaria a perda na capacidade contrátil, logo de produção força. Porém, o aporte de ATP durante um exercício vigoroso nunca cai abaixo de 60% dos valores encontrados em repouso (Totsuka, Nakaji et al. 2002), apesar de ser possível derrubar a produção de força até a incapacidade de manter os níveis desejados. Também é comum associar a fadiga ao aumento na concentração de lactato intracelular, mas Totsuka, Nakaji et al. (2002) destacam que essa explicação é limitada, uma vez que a relação entre acidose muscular e função muscular são fundamentadas em poucas evidências, ao passo que o aumento do fosfato inorgânico, por exemplo, que aumenta em resposta a quebra da creatina fosfato durante a fadiga, tem mostrado uma associação mais forte com a fadiga muscular (Westerblad, Allen et al. 2002). Nesse sentido, é importante compreender os mecanismos que levam à redução desse aporte energético.

O exercício físico produz uma série de metabólitos que funcionam como sinalizadores ou auxiliares de adaptações agudas ou crônicas (Dankel, Mattocks et al. 2017). Quando em níveis aumentados, estes mesmos metabólitos prejudicam o desempenho e expõem o músculo a uma condição que pode resultar em um maior risco de lesão (Hargreaves, McKenna et al. 1998; Vollaard, P Shearman et al. 2005). Dentre os metabólitos decorrentes do exercício estão as espécies reativas de oxigênio (ERO) (Vollaard, P Shearman et al. 2005). ERO são moléculas altamente reativas por possuírem um elétron desemparelhado; em meio a elas estão o superóxido, o peróxido, os radicais de hidroxila, etc., que causam degradação de moléculas, proteínas, lipídios e outras estruturas, levando à perda de função (Steinbacher and Eckl 2015). As ERO são elementos necessários ao bom funcionamento de diversos mecanismos fisiológicos, mas dá-se o nome de estresse oxidativo à incapacidade de o organismo metabolizar as espécies reativas de oxigênio produzidas (Betteridge 2000). O estresse oxidativo ocorre quando a demanda de energia está acima do habitual e a mitocôndria precisa aumentar sua atividade. Com isso, a cadeia transportadora de elétrons permite a fuga de ERO (Ellinger, Muller et al. 2011).

A hipótese mais aceita quanto ao mecanismo de atuação das ERO na fadiga diz respeito à sua capacidade de induzir modificações oxidativas à cabeça da miosina, o que compromete a ação contrátil, mesmo na presença adequada de ATP (Prochniewicz, Spakowicz et al. 2008). Nesse sentido, a maior capacidade de metabolizar as ERO excessivas está relacionada com a melhora no desempenho de atletas de ciclismo (Panza, Wazlawik et al. 2008).

Outro metabólito aumentado durante e após o exercício extenuante é a creatina quinase (CK). O aumento crônico de CK em decorrência do exercício tem causas mecânicas, enquanto que o aumento agudo tem causas metabólicas. Em situação de exercício intenso a musculatura esquelética envolvida é recrutada repetidamente e em uma magnitude de tensão alta o suficiente para gerar micro-lesões nos discos Z dos sarcômeros, o que leva a extravasamento de CK, fato que terá sua maior expressão em 48 h e persistirá por até 72 h após o exercício (Noakes 1987; Totsuka, Nakaji et al. 2002). Já a imediata alta na incidência sérica de CK ocorre devido ao exercício alterar a permeabilidade da membrana celular (Brancaccio, Maffulli et al. 2008).

As micro-lesões mencionadas previamente são fenômenos decorrentes da tensão mecânica do músculo na prática de um exercício que é intenso, possui ações de predomínio excêntrico, ou com características (por exemplo, velocidade e amplitude de movimento) que o praticante não é habituado a realizar. A inflamação decorrente é parte do processo de regeneração muscular e eventualmente de adaptação na forma da hipertrofia (Noakes 1987). A medida que o dano muscular decorrente do exercício é instaurado, prontamente o organismo inicia um processo inflamatório para promover a regeneração muscular e o restabelecimento ou incremento da capacidade de produzir força (Beiter, Hoene et al. 2015). A inflamação decorrente do exercício segue uma sequência bem definida: (1) lesão muscular; (2) liberação de substâncias vasoativas; (3) vasodilatação; (4) adesão de leucócitos; (5) migração de leucócitos do sangue para o tecido lesionado e; (6) reparação tecidual (Malm 2001). Além de um indicador de dano, a inflamação é causadora da dor muscular de início tardio, que é um fator limitante ao

desempenho, visto que reduz amplitude de movimento, produção de torque e altera o padrão de recrutamento muscular, demandando até quatro dias para recuperação (Brancaccio, Maffulli et al. 2008).

No âmbito do esporte é muito importante desvendar os mecanismos que explicam a perda de desempenho em decorrência da fadiga e do dano muscular. Nesse sentido, Del Coso, Gonzalez-Millan et al. (2012) demonstraram que alterações metabólicas e de massa corporal são menos importantes que o nível de dano muscular para causar perda de produção de força em sujeitos submetidos a uma tarefa capaz de induzir a fadiga. Ainda, nesse estudo foi verificado que o grupamento muscular que sofreu o dano teve perda de produção de força pós exercício, enquanto uma musculatura que não estava envolvida na tarefa foi capaz de manter essa variável inalterada. Isso demonstra que o dano muscular é o maior responsável pela perda de eficiência e que o CK é um marcador dessa perda, e não um causador.

1.3 Estratégias para evitar ou minimizar a fadiga muscular

A principal estratégia para combater a fadiga muscular é o treinamento contínuo e organizado a longo prazo (Gregor and Wheeler 1994). Mas existe a necessidade de construir estratégias mais imediatas para evitar os efeitos agudos da fadiga, como durante uma prova esportiva.

Beiter, Hoene et al. (2015) investigaram o uso da crioterapia para promover melhor recuperação muscular pós-exercício extenuante e observaram que, para encontrar redução significativa de CK – importante

marcador de dano muscular, são necessários mais de cinco dias de terapia de imersão em água e gelo. Isso torna inviável a possibilidade de aplicá-la em uma competição que dure mais de um dia, por exemplo. Outro estudo observou que a crioterapia aguda leva a uma percepção de recuperação por parte dos atletas, porém esse tratamento não gerou recuperação do desempenho (Forester and Lambert 2011).

Ainda, em se tratando de treinamento físico, a imersão em água gelada atenua mudanças em células satélites e a atividade de quinases que regulam a hipertrofia muscular, o que pode em longo prazo prejudicar ganhos de força (Roberts, Raastad et al. 2015), o que reflete em uma adaptação negativa ao treinamento. Além disso, a crioterapia prejudica o aumento no diâmetro de artérias, uma adaptação que está associada com a melhora da circulação sanguínea, por exemplo, sugerindo efeitos negativos na adaptação ao treinamento (Yamane, Teruya et al. 2006).

Em outra abordagem, foi investigado o efeito da aplicação de massagem na recuperação da capacidade de produzir potência em ciclistas. Esse tipo de intervenção não mostrou qualquer efeito de melhora detectada no rendimento (Malm 2001). Em uma meta análise da literatura, observa-se que a massagem tem efeitos pequenos e bastantes inconclusivos sobre o desempenho e recuperação pós-exercício (Poppendieck, Wegmann et al. 2016). Tampouco a estimulação elétrica no músculo foi capaz de recuperar o desempenho (Benzie, Szeto et al. 1999). Estratégias pré exercício também são buscadas com o objetivo de prolongar a atividade e reduzir efeito da fadiga, como o caso da laser terapia de baixa potência, que em ciclistas competitivos se mostrou como uma alternativa para prolongar o tempo para exaustão (Lanferdini, Bini et al.

2017), ainda que sua aplicação seja limitada quanto a praticidade e disponibilidade em meio ao esporte amador.

Em meio a tantas possibilidades e estratégias, a suplementação dietética é tida frequentemente como uma alternativa barata e possível de implementar na prática real do atleta profissional ou amador, com vistas a lidar com o processo de recuperação e resistência a fadiga. Para além da intervenção nutricional no âmbito do planejamento alimentar, que já tem benefícios bem documentados na literatura (Purcell 2013; Beck, Thomson et al. 2015), a influência de suplementação com produtos naturais concentrados para reduzir a fadiga e aprimorar o desempenho esportivo tem sido foco de vários estudos, conforme ilustra uma revisão de literatura publicada alguns anos atrás (Jowko 2015). Sendo assim, não é novidade a tentativa de combater a fadiga muscular por meio da suplementação dietética. Nesse sentido, a suplementação com vitamina C (ácido ascórbico) vem demonstrando ser benéfica na redução de marcadores de estresse oxidativo, tendo potencial no combate à fadiga, ainda que não repercuta sobre a redução da inflamação, como descrito para participantes submetidos a um protocolo de fadiga com corrida em esteira (Pasiakos, Lieberman et al. 2014). Há também estudo demonstrando que a suplementação com nitrato inorgânico pode retardar efeitos da fadiga aguda, sem que os mecanismos envolvidos no desfecho sejam compreendidos (Jones 2007). Ainda que heterogêneos, os estudos apontam para benefícios da suplementação no esporte, desde que cautelosa, planejada e pontual. Nesse sentido, a definição das melhores substâncias para a suplementação ainda desafia cientistas do esporte. O maior interesse se nota na ingestão de compostos que tenham propriedades antioxidantes.

2. DELIMITAÇÃO DO TEMA

Um dos compostos mais proeminentes na prescrição de antioxidantes são os polifenóis. Essas estruturas são produto do metabolismo de vegetais que são administrados pelo organismo de humanos como xenobióticos. Sua atuação consiste em ativar as defesas antioxidantes, sendo, portanto, um produto antioxidante indireto (Forester and Lambert 2011). Por outro lado, as catequinas atuam como antioxidantes diretos, realizando uma varredura de ERO e atuando como quelante de metais que possam gerar estresse no sistema (Zaveri 2006). Muito se discute sobre o potencial de suplementações provenientes de produtos naturais, como plantas, ervas e similares, que muitas vezes têm uso popular bastante difundido, embora as evidências científicas muitas vezes demorem para ser apresentadas (Somerville, Bringans et al. 2017).

A *Camellia sinensis* é uma planta rica em polifenóis e que pode ser processada nas formas de chá verde, preto, vermelho e branco. O chá verde é a forma que mais concentra os princípios ativos da *Camellia sinensis*, sendo a epigalo-catequina-3-galato e a epigalocatequina-galato as mais importantes (Forester and Lambert 2011). Apesar de o chá verde parecer não atuar como estimulante na prática de exercícios em humanos (Jowko 2015), sabe-se que ele tem propriedades antioxidantes em sujeitos em repouso, elevando em a capacidade antioxidante em média em 4% (Benzie, Szeto et al. 1999), por isso surge a hipótese de que esse produto natural possa combater os efeitos da fadiga.

Ellinger, Muller et al. (2011) argumentam que o aporte de chá verde gera incremento de defesas antioxidantes em sujeitos que estejam experimentando desequilíbrio oxidativo, como o promovido agudamente pelo exercício físico extenuante. Também foi observado por Panza, Wazlawik et al. (2008) que a ingestão de chá verde na forma de infusão foi benéfica para evitar o aumento de CK sérico imediatamente após exercícios resistidos em sujeitos treinados. Os autores argumentam que o aumento de CK pode ter origem mecânica ou em decorrência do estresse oxidativo, o que aumentaria a permeabilidade da membrana, e que a redução da agressão por ERO é a via que explicaria o benefício encontrado.

Assim como ocorre com os estudos sobre fadiga muscular, no campo da suplementação alimentar são investigados os efeitos durante a prática de exercícios. Essas investigações averiguam os potenciais efeitos para o incremento no tempo para exaustão ou na redução de marcadores de dano e estresse oxidativo em decorrência de uma série exercício, o que muitas vezes não reproduz o cotidiano da maioria dos atletas profissionais ou mesmo amadores. Há escassez de estudos que investiguem os efeitos da suplementação na fadiga acumulada ou na recuperação muscular pós-fadiga, bem como a sua possível capacidade de manter o nível de produção de força o mais íntegro possível. Até o momento não foram encontrados estudos que abordassem o uso da suplementação com chá verde sobre o desempenho muscular em uma situação de fadiga acumulada.

Por isso, neste estudo o nosso foco foi em abordar os efeitos da fadiga acumulada de sessões de exercício em uma abordagem mais próxima da prática real dos atletas, levando em consideração as provas que são realizadas

em mais de um dia e explorando o tópicos da fadiga induzida pelos estímulos de intensidade moderada, mas aplicados repetidamente, cujos efeitos irão verificar-se tardiamente. Essa abordagem considerou a suplementação com extrato de chá verde, e representou o seguimento de uma linha de investigação dedicada ao estudo do potencial antioxidante do chá verde em mecanismos de estresse oxidativo e desempenho cognitivo com modelos animais (Flores, Martins et al. 2014; Schimidt, Vieira et al. 2014; Altermann, Souza et al. 2017; Martins, Schimidt et al. 2017; Schimidt, Garcia et al. 2017; Soares, Ramalho et al. 2017) e mais recentemente também começamos a investigar no contexto da recuperação de dano muscular resultante de exercícios até a exaustão (Silva 2017).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Determinar o efeito da suplementação com extrato de chá verde sobre biomarcadores de fadiga e de desempenho neuromuscular em atletas amadores submetidos à situação de fadiga acumulada.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar se a suplementação com extrato de chá verde é capaz de:
 - Reduzir marcadores de dano muscular;
 - Reduzir processo inflamatório decorrente do exercício;
 - Reduzir estresse oxidativo;
 - Preservar o desempenho neuromuscular em condição de fadiga.

PARTE II

4. ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

Nesta parte da dissertação apresentamos um artigo científico original escrito nas normas da revista *Journal of Science and Medicine in Sport* (normas em anexo – ANEXO I).

**SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE PRESERVA
MARCADORES DE EFICIÊNCIA E DE DANO MUSCULAR EM ATLETAS
AMADORES**

Álvaro S Machado¹, Willian da Silva¹, Mauren A Souza^{2,3}, Felipe P Carpes^{1*}

¹ Grupo de Pesquisa em Neuromecânica Aplicada, Laboratório de
Neuromecânica, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, Brasil

² Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Laboratório de Neuroquímica, Universidade
Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, Brasil

³ Escola de Educação Física, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS,
Brasil

*** autor correspondente**

Felipe P Carpes, Ph.D.

Universidade Federal do Pampa

Laboratório de Neuromecânica

Caixa postal 118 - CEP 97500-970, Uruguaiana, RS, Brasil

Fone: +55 55 3911 0225

e-mail: carpes@unipampa.edu.br

Acknowledgements

Authors would like to thank professors Caetano Lazzari, Daiana Ávila and Pamela Carpes for technical support during data analysis. ASM received a student fellowship from CAPES – Brazil. MAS and FPC were supported by CNPq – Brazil. The authors declare no conflict of interest concerning the content of this article.

Resumo

Objetivo: A suplementação esportiva tem ganho destaque nos últimos anos e um dos principais objetivos da ingestão de diversas substâncias é a manutenção do exercício em condição de fadiga. Neste estudo, determinamos se a suplementação com extrato de chá verde, produto natural rico em antioxidantes, tem um efeito benéfico sobre o rendimento e o dano muscular em resposta ao exercício físico realizado em sessões repetidas de exercício induzindo fadiga acumulada.

Desenho: ensaio randomizado triplo com controle placebo.

Métodos: Dezesesseis atletas amadores treinados foram avaliados antes e após um período de suplementação (placebo, n=8; extrato de chá verde 500 mg/dia durante 15 dias, n=8) com protocolos de exercício em cicloergômetro realizados com e sem a indução de fadiga muscular. Coletas sanguíneas para determinação de marcadores de dano muscular e estresse oxidativo, e medidas de eletromiografia, para determinação da ativação elétrica neuromuscular, além de parâmetros de treinamento e frequência cardíaca foram quantificados e comparados entre os grupos nas diferentes condições.

Resultados: o extrato de chá verde inibiu aumentos no estresse oxidativo induzido pela fadiga acumulada conforme se observou no grupo placebo. Marcadores de micro-dano do músculo fadigado tiveram menor magnitude no grupo suplementado. A atividade elétrica dos músculos agonistas para o exercício foi preservada no grupo suplementado.

Conclusão: a suplementação com chá verde foi benéfica para evitar o dano muscular e o estresse oxidativo, além de preservar o recrutamento

neuromuscular em condição de fadiga resultante de várias sessões de exercício.

Palavras chave: endurance; fadiga; recuperação pós exercício; polifenóis; *Camellia sinensis*.

Destaques

- Suplementação com extrato de chá verde na dose 500 mg/dia durante 15 dias beneficia o rendimento em exercício de ciclismo.
- Suplementação com extrato de chá verde diminui o dano muscular após fadiga.
- Suplementação com extrato de chá verde diminui o estresse oxidativo após fadiga.
- Suplementação com extrato de chá verde preserva a ativação neuromuscular em condição de fadiga.

INTRODUÇÃO

A fadiga muscular é considerada um limitante do desempenho ¹, e minimizar seus efeitos é desejável no esporte competitivo. O processo de fadiga tem origem multifatorial ², envolvendo, por exemplo, a depleção de ATP, dano muscular e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem levar ao estresse oxidativo ³⁻⁵. Esses fatores influenciam a produção de força, e no caso do ciclismo limitam a potência produzida e logo a capacidade de manter o exercício nos níveis de rendimento pretendidos. Além do efeito imediato no desempenho do exercício, a fadiga pode ter um efeito cumulativo, causando perda de rendimento após sessões seguidas de exercício, como ocorre também em competição ^{6, 7}. Estratégias para minimizar a persistência dos efeitos da fadiga, acelerando a recuperação pós-exercício ou até mesmo melhorando a resposta à fadiga são buscadas por atletas e treinadores. Nesse contexto, a suplementação com produtos naturais tem ganhado destaque, desde que as substâncias não sejam classificadas como doping.

Considerando que a fadiga e seus efeitos em condições de sessões repetidas de exercício tem importante participação de mecanismos de estresse oxidativo resultante de dano muscular ⁸, o fato de a *Camellia sinensis* ser uma planta rica em polifenóis, o que caracteriza um grande poder antioxidante ⁹, tem aumentado o interesse em compreender como a suplementação com extrato de chá verde (ECV) pode afetar o desempenho esportivo.

Alguns efeitos positivos do uso do ECV no esporte foram observados anteriormente, como a redução do estresse oxidativo ¹⁰, e o aumento da

oxidação de gordura em adultos pedalando a 60% do VO_{2max} ¹¹. Mas ao contrário do que se esperava, o extrato de chá verde não gerou benefícios adicionais na pedalada ¹². Com exceção do estudo de Richards, Lonac, Johnson, Schweder, Bell ¹³ que observaram melhores índices de volume máximo de oxigênio (VO_{2max}) na prática de ciclismo até a exaustão após suplementação com catequinas presentes no ECV, até então nenhum estudo mostrou os benefícios do ECV no exercício realizado de maneira contínua.

Atribui-se a variabilidade dos resultados à não padronização da dosagem e ao tempo de suplementação insuficiente para gerar adaptações metabólicas ⁹.

Os efeitos do ECV na inibição ou redução dos efeitos da fadiga persistente de dias consecutivos de exercícios é um contexto bastante aplicável, tanto no esporte amador quanto no profissional, onde ciclistas, por exemplo, participam de competições e desafios que podem envolver três dias seguidos ou mais de competições sem o adequado tempo de recuperação. A parte disso há um potencial clínico também, quando se trata de exercício físico para populações especiais que sofrem com danos da fadiga muscular. Com isso, o objetivo deste estudo foi determinar se a suplementação com ECV é capaz de minimizar mecanismos de fadiga (dano muscular e estresse oxidativo) e favorecer a eficiência neuromuscular de atletas amadores que precisam sustentar um determinado nível de rendimento sob efeitos da fadiga acumulada.

MÉTODOS

Participantes e desenho experimental

Este é um estudo randomizado triplo-cego placebo controle. Foram recrutados 22 participantes. Eram todos homens praticantes de ciclismo e corrida, e todos assinaram um termo de consentimento aprovado pelo comitê de ética da instituição local. Durante o estudo, seis participantes faltaram em avaliações agendadas, motivo pelo qual foram excluídos. Ao final, os participantes foram organizados em grupos chá verde (n=8) e grupo placebo (n=8), que apresentavam respectivamente média (DP) de idade 37 (10) e 37 (7) anos; massa corporal 77 (8) e 76 (10) kg; estatura 1,70 (0,1) e 1,70 (0,1) m; tempo de treino de 88 (64) e 59 (48) meses; frequência semanal média de 7,2 horas para ambos os grupos. Foram critérios de exclusão a incapacidade de realizar o protocolo, o consumo de medicamentos ou estimulantes, histórico de lesão em membros inferiores nos seis meses anteriores e a restrição médica quanto ao uso da suplementação proposta. Foi definido como critério de inclusão o tempo mínimo de treinamento de doze meses no seu esporte de base.

Foram comparados índices de custo eletromiográfico, de dano muscular e de estresse oxidativo, além da variação da frequência cardíaca entre sujeitos que passaram que realizaram uma tarefa de esforço sub-máximo em um cicloergômetro sob duas condições: a) sem fadiga e sem suplementação e; b) com fadiga e com suplementação. Para evitar efeito de aprendizado, a ordem das condições era alternada entre os sujeitos. Quando a pedalada sem fadiga era realizada depois do período de suplementação, era assegurado que o

participante estaria ao menos cinco dias sem suplementação ^{14, 15}, e cinco dias sem ter realizado exercício vigoroso, além de estar a dois dias sem realizar exercício algum ¹⁶.

Os participantes eram orientados a manter o nível de atividade física habitual e que vinham realizando nas três semanas anteriores, sendo vedado o incremento de carga, o início de uma nova atividade ou a cessação de alguma prática. Foram coletadas amostras de sangue dos participantes nos momentos pré e pós cada uma das duas pedaladas.

Antes e após cada teste no cicloergômetro eram coletadas amostras de sangue. Durante os testes de pedalada eram coletados dados de frequência cardíaca e eletromiografia (EMG) de vastos laterais.

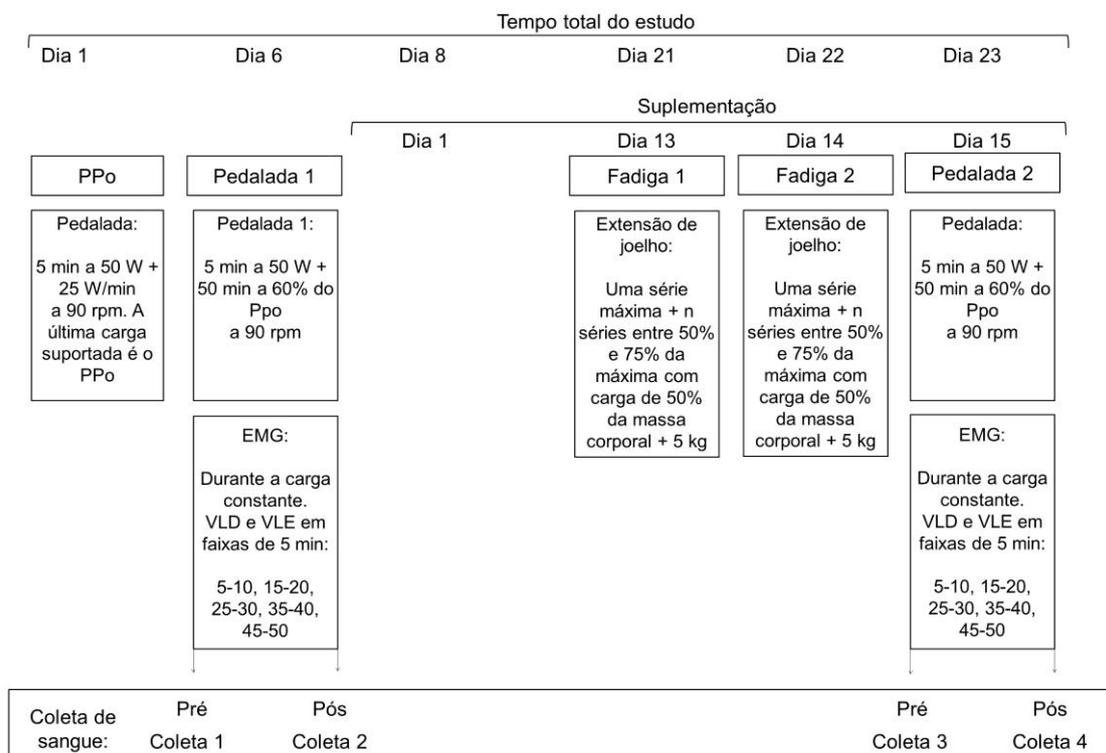


Figura 1. Esquema do desenho experimental. Ambos os grupos cumpriram o mesmo cronograma. O pico de potência (PPo) era realizado sempre no mínimo quatro dias antes da Pedalada 1. Para evitar efeito do aprendizado, metade dos sujeitos de cada grupo realizou os testes da Pedalada 1 após a Pedalada 2 com no mínimo cinco dias entre os testes. rpm: cadência de pedalada medida em rotações por minuto; Ppo: potência máxima produzida; VLD: vasto lateral direito; VLE: vasto lateral esquerdo; EMG: eletromiografia realizada para avaliar a ativação neuromuscular.

Ativação neuromuscular

Foi assumido como marcador de ativação neuromuscular a medida de EMG ao longo dos testes sub-máximos no cicloergômetro. Os testes de ciclismo foram executados sob carga constante e cadência controlada em um cicloergômetro (Lode Excalibur Sport, Lode, HOL), de onde mediu-se a ativação eletromiográfica do músculo vasto lateral de ambas as pernas por meio de eletromiografia de superfície com taxa de amostragem de 1500 Hz (myoMUSCLE™, Noraxon, EUA) seguindo configuração de acordo com SENIAM¹⁷. Os sinais EMG foram submetidos a um filtro *Butterworth* passa banda de 4ª ordem e frequência de corte entre 0,5 e 250 Hz. Foram extraídos dados de mediana da frequência (MDF) de ativação com o uso da transformada rápida de Fourier e dos valores de RMS considerando os dados de cada contração, determinada usando um critério para definição do início e final da atividade elétrica com base no aumento do sinal em 2 desvios-padrão acima da média do sinal de repouso¹⁸. Cada intervalo de registro da EMG teve cinco minutos, que serão chamados de momentos 1 a 5 na apresentação dos

resultados. Cada momento de gravação era separado por um período de cinco minutos sem gravação de EMG. O momento de gravação 1 foi considerado como referência para normalização da EMG. O comportamento da MDF, como indicador de fadiga ¹⁹ e RMS, como indicador da magnitude de ativação ²⁰ ao longo do exercício foram comparados nas situações com e sem fadiga/suplementação. O cicloergômetro foi ajustado de forma individualizada considerando as proporções antropomórficas de cada participante ²¹.

Para individualizar a carga das pedaladas sub-máximas com e sem fadiga, os participantes passaram por um pré-teste de carga incremental para determinação do pico de potência (PPo). Eles eram orientados a pedalar a 90 rpm sob carga de 50 W nos primeiros cinco minutos com incrementos de 25 W a cada minuto até não conseguir mais realizar a tarefa. A última carga completa era definida como o PPo ²².

As pedaladas sub-máximas eram realizadas sob cadência de 90 rpm por cinco minutos a 50 W e em seguida por 50 min sob carga de 60% do PPo ²².

Indução à fadiga

A fadiga acumulada foi induzida através de dois dias consecutivos de contração de quadríceps em uma cadeira extensora até a exaustão. O objetivo do protocolo foi fadigar a principal musculatura envolvida na produção de potência no ciclismo, o quadríceps. Na primeira série de exercícios o participante era orientado a realizar o máximo de elevações da carga (50% de sua massa corporal + 5 kg) em um ritmo de 20 repetições por minuto, sinalizado por um metrônomo. Após 30 segundos de repouso, as séries

seguintes eram realizadas. Se o participante atingisse 75% das repetições da série inicial, ele era orientado a descansar, se não alcançasse 50% era considerado fadigado e o protocolo era encerrado.

Suplementação e orientações dietéticas

Os participantes de cada grupo recebiam 15 cápsulas não identificadas e eram orientados a consumir uma por dia, antes do desjejum, com um copo de água. As cápsulas continham 500 mg de ECV ou de celulomax E, uma substância inativa. Uma amostra do ECV utilizado no estudo foi testada em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e foi confirmada a presença de epigallocatequina-galato (1,60 mg/g), epicatequina (1,59 mg/g), epigallocatequina (16 mg/g) e epicatequina-galato (17,80 mg/g). A forma de suplementação em cápsulas apresenta maior biodisponibilidade, por isso foi selecionada ²³. Durante o período de suplementação, os participantes eram orientados a não consumir estimulantes, suplementos, medicamentos e chá verde ou suas variantes em qualquer forma durante todo período do estudo. Além disso, eram orientados a não consumir frutas, leite e derivados, cafeína e bebidas alcoólicas na véspera de cada teste ¹⁰. Contato diário era feito com os participante com forma de os manter atentos aos horários para suplementação e os cuidados requeridos durante o período.

Coleta de sangue e ensaios bioquímicos

Foram coletadas amostras de sangue (10 mL) pré e pós cada pedalada, através de punção na fossa antecubital. O sangue era centrifugado a 2500 rpm por 15 minutos e o plasma era separado e armazenado a -80°C para análises

posteriores. Foi determinado o nível de micro-dano muscular através da quantificação de creatina quinase (CK) total⁵ com kit comercial (Labtest). A análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi utilizada para determinar a peroxidação lipídica²⁴.

Para garantir que nenhum participante tenha sido acometido por lesões de tecidos moles que pudessem interferir nos testes (por exemplo, distensão, ruptura, entorse, etc)²⁵, foram quantificados os níveis séricos de proteína C reativa através de um kit de análise imunológica (Labtest).

As coletas foram apresentadas como: A = pré pedalada sem fadiga; B = pós pedalada sem fadiga; C = pré pedalada com fadiga e; D pós pedalada com fadiga.

Análises estatísticas

Os dados foram expressos em média e desvio padrão para cada grupo. Foi verificada a normalidade dos dados através do teste de Shapiro-Wilk. A análise dos resultados de EMG ao longo das sessões de pedalada e a comparação entre os grupos foram verificadas através de ANOVA de duas vias com *post-hoc* de Bonferroni. Quando paramétricos, os dados de bioquímica e FC intra-grupo foram comparadas entre as sessões de exercício através da ANOVA de uma via com *post-hoc* de Bonferroni. Quando não paramétricos foram realizados teste de Friedman e Wilcoxon. As comparações dos grupos foram realizadas com teste t independente. Todas as análises estatísticas consideraram um nível de significância de 0,05.

RESULTADOS

O pico de potência produzida no teste incremental não diferiu ($t_{(1)}=0,333$; $P=0,748$) entre o grupo chá verde (303 ± 52 W) e o grupo placebo (309 ± 49 W). Com isso, a carga submáxima para as sessões de pedalada também não diferiram entre os grupos (180 ± 27 W para chá verde, e 181 ± 31 W para o placebo).

Ativação neuromuscular

A análise da ativação neuromuscular sob efeito da fadiga (Fig. 2B) demonstrou que o RMS do VLD no grupo chá verde não diferiu do observado na a condição sem fadiga ($F_{(4)}=0,009$; $P=0,92$), o que também ocorreu para o grupo placebo ($F_{(4)}=3,570$; $P=0,06$). No entanto, o RMS do VLE diminuiu no momento 4 na condição de fadiga apenas para o grupo placebo ($F_{(4)}=5,510$; $P=0,02$) nos minutos 35-40 ($t_{(1)}=5,510$; $P=0,02$), o que não ocorreu no grupo chá verde ($F_{(4)}= 2,151$; $P=0,14$).

Na MDF (Fig. 2D), a fadiga não gerou alterações no grupo chá em VLD ($F_{(4)}= 0, 009$; $P=0,92$) e VLE ($F_{(4)}= 1,914$; $P=0,17$). O grupo placebo manteve MDF igual em VLD ($F_{(4)}= 0,680$; $P=0,17$), mas apresentou valores menores que na condição sem fadiga ($F_{(4)}= 5,510$; $P=0,02$) nos minutos 35-40 ($t_{(1)}= 2,819$; $P<0,05$) em VLE no momento 4.

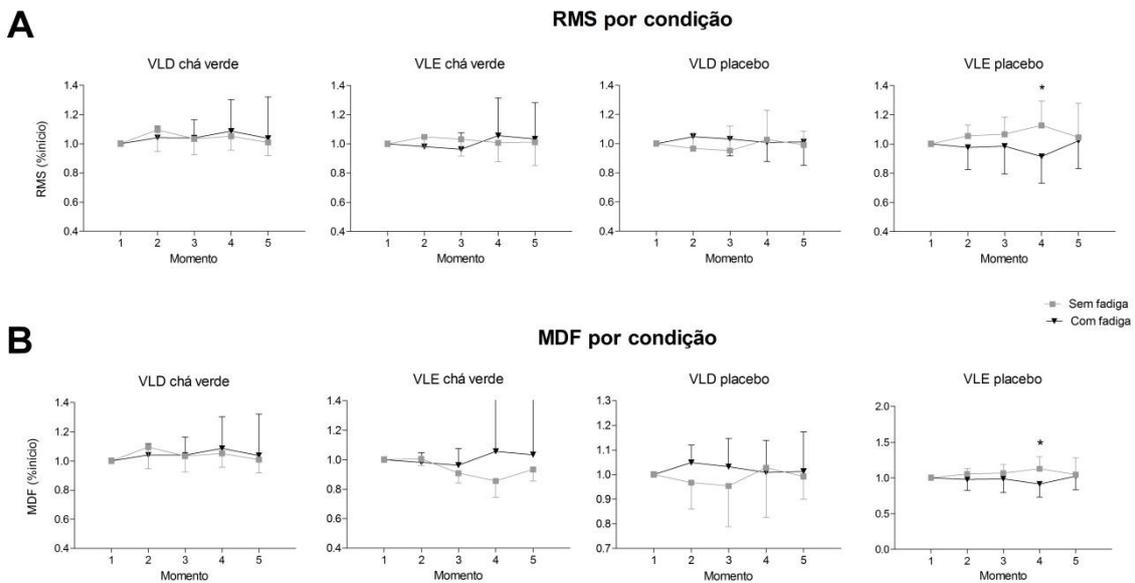


Figura 2. Dados em média e DP para sem e com fadiga de *root mean square* (RMS) e mediana da frequência (MDF) (% da gravação inicial) de ambos os grupos para cada momento de gravação em vasto lateral direito (VLD) e vasto lateral esquerdo (VLE). * significa $p < 0.05$.

Bioquímica e FC

Segundo a quantificação de PCR, nenhum participante sofreu macrolesão ao longo do vínculo com o estudo.

A CK (Fig. 3.1) do grupo chá verde permaneceu inalterada em todas as coletas ($F_{(3)}=0,767$; $P=0,522$). Já o grupo placebo demonstrou CK não diferiu entre as coletas 1 e 2 ($Z_{(1)}=-1,120$; $P=0,263$), mas na coleta 3 a CK foi maior que na 1 ($Z_{(1)}=-2,100$; $P=0,036$) e não diferiu da coleta 2 ($Z_{(1)}=-1,680$; $P=0,930$). Na coleta 4 os níveis estiveram maiores que na coleta 1 ($Z_{(1)}=-2,100$; $P=0,036$), que na coleta 2 ($Z_{(1)}=-2,100$; $P=0,036$) e que na coleta 3 ($Z_{(1)}=-2,521$; $P=0,012$).

Na comparação entre os grupos, chá e placebo não diferiram nas coletas 1 ($F_{(1)}=1,600$; $P=0,300$) e 2 ($F_{(1)}=1,890$; $P=0,191$), mas CK foi maior no grupo placebo nos nas coletas 3 ($F_{(1)}=18,917$; $P=0,001$) e 4 ($F_{(1)}=19,496$; $P=0,300$).

A peroxidação lipídica (TBARS), figura 3.2, não diferiu entre as coletas no grupo chá ($F_{(3)}=1,234$; $P=0,316$) e nem no grupo placebo ($F_{(1)}=1,000$ $P=0,901$). Os grupos não diferiram entre si nas coletas 1 ($F_{(1)}=4,200$; $P=0,600$), 2 ($F_{(1)}=3,703$; $P=0,075$) e 3 ($F_{(1)}=0,522$; $P=0,482$), mas os valores foram maiores no grupo placebo na coleta 4 ($F_{(1)}=4,838$; $P=0,045$). Nenhum participante em nenhuma coleta demonstrou níveis de proteína C reativa (dados não apresentados) acima dos valores de referência.

Por fim, a curva da frequência cardíaca (Fig. 3.3) ao longo do exercício não foi afetada pela fadiga no grupo chá ($F_{(1)}=0,075$; $P=0,788$), mas teve aumento no grupo placebo ($F_{(1)}=5,869$; $P=0,030$).

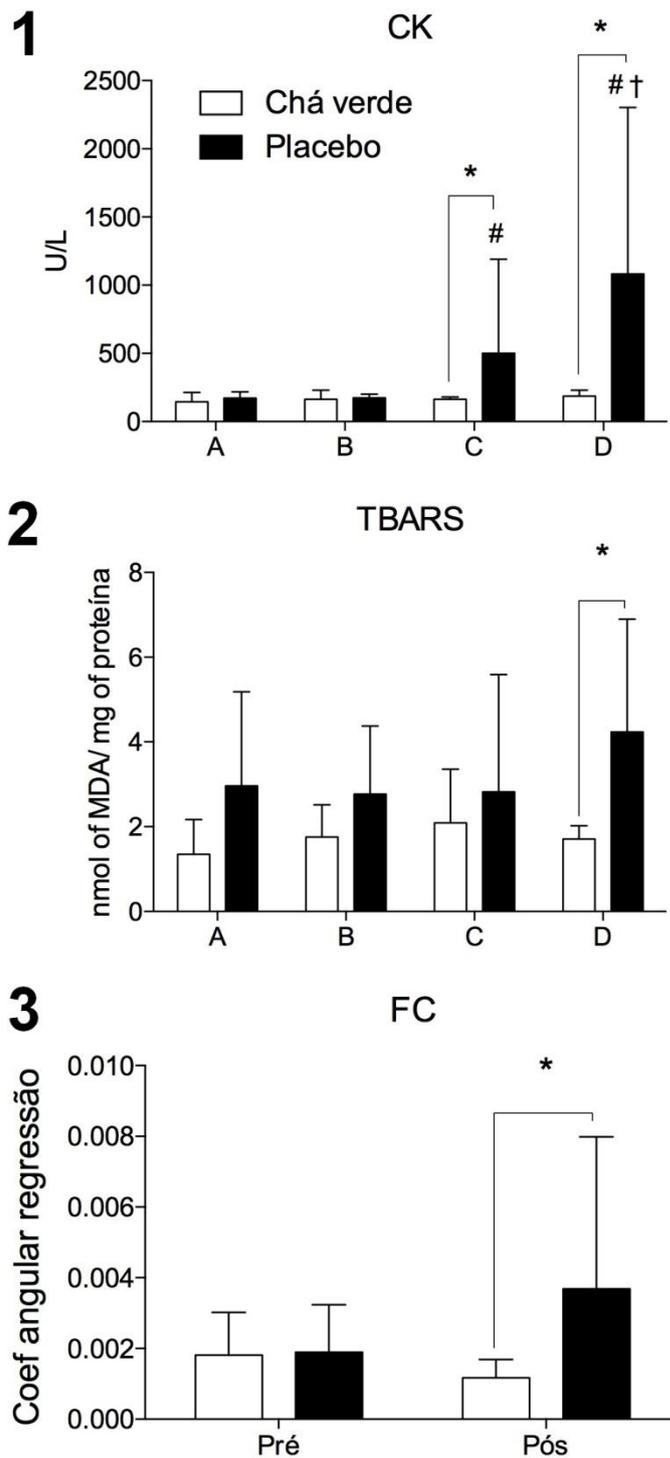


Figura 3. Dados de (1) creatina quinase (CK), (2) peroxidação lipídica (TBARS) para ambos os grupos nas coletas pré pedalada sem fadiga (A), pós pedalada sem fadiga (B), pré pedalada com fadiga (C) e pós pedalada com fadiga (D); e (3) coeficiente

angular da frequência cardíaca (FC) com e sem fadiga * significa diferença entre os grupos; # significa maior que A e B; † significa maior que C. P<0,05.

DISCUSSÃO

Neste estudo evidenciamos que a suplementação com ECV é capaz de evitar os efeitos negativos da fadiga acumulada sobre a ativação neuromuscular e marcadores de dano muscular em exercício de ciclismo.

Este parece ser o primeiro estudo a demonstrar efeitos desse tipo de suplementação com ECV em uma condição de exercício associado à fadiga acumulada. Até então os efeitos positivos da suplementação com ECV em modelo humano estavam restritos ao incremento da capacidade de permanecer realizando um exercício em decorrência de uma maior oxidação de lipídios, dando aos sujeitos um maior aporte energético ²⁶. Em nosso estudo, pela primeira vez foi evidenciada a capacidade da suplementação com ECV promover benefícios à musculatura envolvida no exercício e através dela evitar a perda na ativação neuromuscular, o que pode ter importantes implicações práticas para o treinamento.

Segundo dados do RMS, o grupo placebo demonstrou menor atividade elétrica neuromuscular quando pedalando sob efeito da fadiga. Seria possível compreender que essa redução significaria uma melhor eficiência para cumprir a tarefa, cuja carga é constante, mas Mendez-Villanueva, Edge, Suriano, Hamer, Bishop ²⁷ demonstram que à medida em que uma musculatura é submetida a repetidos protocolos de exercícios extenuantes, o valor RMS

tende a diminuir progressivamente em decorrência da fadiga muscular. Essa perda de atividade eletromiográfica é acompanhada de uma perda de força que não pode ser verificada em nosso teste, visto que a carga é constante, mas que possivelmente foi compensada por outras musculaturas envolvidas na pedalada que não passaram pelo processo de fadiga ²⁸.

Essa hipótese é confirmada pela redução na MDF na mesma perna e no mesmo momento, e pelo aumento na frequência cardíaca, provavelmente pela maior demanda cardiovascular ²⁹ em decorrência da ativação de um grupamento muscular anteriormente menos utilizado. Por outro lado, o grupo chá verde manteve a atividade neuromuscular e a frequência cardíaca sem diferenças durante e entre as condições de exercício. Esse prejuízo neuromuscular apresentado pelo grupo placebo condição de fadiga tem como uma possível explicação a falha na propagação neuromuscular ³⁰, fenômeno evitado pela suplementação com ECV em nosso estudo.

Ambos os marcadores de esforço previamente citados foram protegidos pela suplementação com o ECV, possivelmente pelos benefícios bioquímicos da suplementação. Somente o dano muscular do grupo placebo aumentou por consequência da indução à fadiga. O aumento desse marcador geralmente está associado ao micro-dano muscular causado por estresse mecânico ou oxidativo ³¹, sendo esta última hipótese a mais aceita como mecanismo de ação que explicaria o efeito protetivo do ECV ³². O fato da proteína C reativa não ter se elevado acima dos valores de referência indicam que não houve lesão estrutural em nenhum participante durante os testes ou durante a rotina de treinamento dos mesmos ²⁵. Isso nos sugere que os prejuízos no grupo

placebo foram causados apenas pela fadiga e suas consequências metabólicas.

Ainda, destacamos que o dano muscular não aumentou na comparação entre as coletas pré e pós pedalada sem fadiga em nenhum dos grupos e na pedalada com fadiga no grupo chá verde, mas somente no grupo placebo o dano muscular aumentou na comparação pré e pós pedalada com fadiga, o que indica que uma tarefa que não iria gerar dano muscular em condições normais tornou-se capaz de agredir a musculatura envolvida na tarefa. A peroxidação lipídica que medimos confirma essa interpretação de nossos resultados, visto que o grupo chá verde manteve os níveis de peroxidação lipídica sem diferenças em todas as coletas, de acordo com o esperado, pois o estresse oxidativo não é acumulado em dias consecutivos de exercícios ³³, mas o grupo placebo sofreu com estresse oxidativo, sobretudo ao fim do protocolo. O efeito protetivo do ECV de nossos resultados corrobora o reportado por Jowko, Dlugolecka, Makaruk, Cieslinski ³⁴, em que corredores submetidos a duas pedaladas de alta intensidade demonstraram estresse oxidativo sem suplementação, mas mantiveram o status oxidativo íntegro sob suplementação com ECV.

Aqui verificamos que durante a realização do exercício em condição de fadiga acumulada os participantes estiveram mais vulneráveis ao processo agudo de dano oxidativo. Com isso, e com a análise do dano muscular, podemos inferir que o grupo chá verde tenha realizado o exercício com as fibras musculares mais íntegras em comparação ao grupo placebo. Nesse sentido, talvez o leitor questione as mudanças pequenas na ativação

neuromuscular, que embora corroborem os nossos resultados de bioquímica, são mais discretos que as mudanças nos marcadores sanguíneos. Nesse sentido, o fato de os participantes serem treinados e nosso exercício ser de característica submáxima deve ser notado, uma vez que o treinamento em geral aprimora a ativação neuromuscular e a resposta à fadiga durante exercício ^{35, 36}.

Além de promover dano estrutural, o exercício vigoroso capaz de gerar um estado de fadiga é responsável pelo aumento das EROs, cujo desequilíbrio em relação à capacidade antioxidante do sistema pode gerar a situação de estresse oxidativo ³⁷. O estresse oxidativo afeta transitoriamente a dinâmica do acoplamento entre actina e miosina, o que leva a prejuízo na contratilidade muscular e consequente perda de capacidade de produzir força ³⁸. As catequinas do chá verde atuam como captadoras de EROs e na quelatação de metais, o que promove uma proteção antioxidante maior que a vitamina C e E ³⁹. Por isso, consideramos que a propriedade anti-oxidante do ECV foi a maior responsável pela manutenção da eficiência do grupo chá verde na condição com fadiga.

Nosso estudo tem limitações. Fadiga é um fenômeno difícil de mensurar e em nosso estudo, chamamos de fadiga acumulada a condição após a exposição dos participantes a atividades intensas e levadas até exaustão. Em se tratando de efeitos da fadiga, seria interessante apresentar dados de torque gerado durante a pedalada, de modo a estimar qualquer mudança no nível de força produzido pelo grupos placebo e chá antes e depois da suplementação, assim como o monitoramento da percepção de esforço durante os testes de

ciclismo poderia auxiliar na discussão sobre efeitos da suplementação sobre os níveis de fadiga.

CONCLUSÃO

O extrato de chá verde inibe o estresse oxidativo induzido pela fadiga acumulada, o que parece evitar o dano estrutural do músculo fadigado. Sendo assim, sua propriedade antioxidante parece ter um efeito indireto sobre a atividade elétrica dos músculos vastos laterais atletas amadores submetidos à fadiga. Dessa forma, a suplementação com extrato de chá verde pode ser uma estratégia benéfica para minimizar o dano muscular e preservar a eficiência em condições de fadiga acumulada.

REFERÊNCIAS

1. Abbiss CR, Laursen PB. Models to explain fatigue during prolonged endurance cycling. *Sports Med.* 2005; 35(10):865-898.
2. Enoka RM, Duchateau J. Muscle fatigue: what, why and how it influences muscle function. *The Journal of physiology.* 2008; 586(1):11-23.
3. Hultman E, Spriet LL, Soderlund K. Biochemistry of muscle fatigue. *Biomedica biochimica acta.* 1986; 45(1-2):S97-106.
4. Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules.* 2015; 5(2):356-377.
5. Noakes TD. Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. *Sports Med.* 1987; 4(4):245-267.
6. Stewart RD, Duhamel TA, Rich S, Tupling AR, Green HJ. Effects of consecutive days of exercise and recovery on muscle mechanical function. *Medicine and science in sports and exercise.* 2008; 40(2):316-325.
7. Rodríguez-Marroyo JA, Villa JG, Pernía R, Foster C. Decrement in Professional Cyclists' Performance After a Grand Tour. *International Journal of Sports Physiology and Performance.* 2017; 12(10):1348-1355.
8. Kyparos A, Salonikidis K, Nikolaidis MG, Kouretas D. Short duration exhaustive aerobic exercise induces oxidative stress: a novel play-oriented volitional fatigue test. *The Journal of sports medicine and physical fitness.* 2007; 47(4):483-490.

9. Jowko E. Green Tea Catechins and Sport Performance, in *Antioxidants in Sport Nutrition*. Lamprecht M, ed. Boca Raton (FL)2015.
10. Sugita M, Kapoor MP, Nishimura A, Okubo T. Influence of green tea catechins on oxidative stress metabolites at rest and during exercise in healthy humans. *Nutrition*. 2016; 32(3):321-331.
11. Venables MC, Hulston CJ, Cox HR, Jeukendrup AE. Green tea extract ingestion, fat oxidation, and glucose tolerance in healthy humans. *The American journal of clinical nutrition*. 2008; 87(3):778-784.
12. Dean S, Braakhuis A, Paton C. The effects of EGCG on fat oxidation and endurance performance in male cyclists. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2009; 19(6):624-644.
13. Richards JC, Lonac MC, Johnson TK, Schweder MM, Bell C. Epigallocatechin-3-gallate increases maximal oxygen uptake in adult humans. *Medicine and science in sports and exercise*. 2010; 42(4):739-744.
14. Chow HHS, Hakim IA, Vining DR, et al. Effects of Dosing Condition on the Oral Bioavailability of Green Tea Catechins after Single-Dose Administration of Polyphenon E in Healthy Individuals. *Clinical Cancer Research*. 2005; 11(12):4627.
15. Chow HHS, Cai Y, Hakim IA, et al. Pharmacokinetics and Safety of Green Tea Polyphenols after Multiple-Dose Administration of Epigallocatechin Gallate and Polyphenon E in Healthy Individuals. *Clinical Cancer Research*. 2003; 9(9):3312.
16. Ahtiainen JP, Pakarinen A, Kraemer WJ, Häkkinen K. Acute Hormonal and Neuromuscular Responses and Recovery to Forced vs. Maximum

- Repetitions Multiple Resistance Exercises. *International journal of sports medicine*. 2003; 24(06):410-418.
17. Hermens HJ, Freriks B, Disselhorst-Klug C, Rau G. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. *Journal of electromyography and kinesiology : official journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology*. 2000; 10(5):361-374.
 18. Hodges PW, Bui BH. A comparison of computer-based methods for the determination of onset of muscle contraction using electromyography. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*. 1996; 101(6):511-519.
 19. Cifrek M, Medved V, Tonkovic S, Ostojic S. Surface EMG based muscle fatigue evaluation in biomechanics. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2009; 24(4):327-340.
 20. Moritani T, Muro M, Nagata A. Intramuscular and surface electromyogram changes during muscle fatigue. *J Appl Physiol (1985)*. 1986; 60(4):1179-1185.
 21. Priego Quesada JI, Martínez Guillamón N, Cibrián Ortiz de Anda RM, et al. Effect of perspiration on skin temperature measurements by infrared thermography and contact thermometry during aerobic cycling. *Infrared Physics & Technology*. 2015; 72(Supplement C):68-76.
 22. Priego Quesada JI, Martínez N, Salvador Palmer R, et al. Effects of the cycling workload on core and local skin temperatures. *Experimental Thermal and Fluid Science*. 2016; 77(Supplement C):91-99.

23. Henning SM, Niu Y, Lee NH, et al. Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement. *The American journal of clinical nutrition*. 2004; 80(6):1558-1564.
24. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979; 95(2):351-358.
25. Pritchett JW. C-reactive protein levels determine the severity of soft-tissue injuries. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*. 1996; 25(11):759-761.
26. Ichinose T, Nomura S, Someya Y, Akimoto S, Tachiyashiki K, Imaizumi K. Effect of endurance training supplemented with green tea extract on substrate metabolism during exercise in humans. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2011; 21(4):598-605.
27. Mendez-Villanueva A, Edge J, Suriano R, Hamer P, Bishop D. The Recovery of Repeated-Sprint Exercise Is Associated with PCr Resynthesis, while Muscle pH and EMG Amplitude Remain Depressed. *PloS one*. 2012; 7(12):e51977.
28. Ericson MO, Bratt A, Nisell R, Arborelius UP, Ekholm J. Power output and work in different muscle groups during ergometer cycling. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1986; 55(3):229-235.
29. Thomson RL, Rogers DK, Howe PR, Buckley JD. Effect of acute exercise-induced fatigue on maximal rate of heart rate increase during submaximal cycling. *Res Sports Med*. 2016; 24(1):1-15.

30. Fuglevand AJ, Zackowski KM, Huey KA, Enoka RM. Impairment of neuromuscular propagation during human fatiguing contractions at submaximal forces. *The Journal of physiology*. 1993; 460:549-572.
31. Morillas-Ruiz JM, Villegas Garcia JA, Lopez FJ, Vidal-Guevara ML, Zafrilla P. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clin Nutr*. 2006; 25(3):444-453.
32. Panza VS, Wazlawik E, Ricardo Schutz G, Comin L, Hecht KC, da Silva EL. Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men. *Nutrition*. 2008; 24(5):433-442.
33. Shing CM, Peake JM, Ahern SM, et al. The effect of consecutive days of exercise on markers of oxidative stress. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2007; 32(4):677-685.
34. Jowko E, Dlugolecka B, Makaruk B, Cieslinski I. The effect of green tea extract supplementation on exercise-induced oxidative stress parameters in male sprinters. *European journal of nutrition*. 2015; 54(5):783-791.
35. Tenan MS, McMurray RG, Blackburn BT, McGrath M, Leppert K. The relationship between blood potassium, blood lactate, and electromyography signals related to fatigue in a progressive cycling exercise test. *Journal of electromyography and kinesiology : official journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology*. 2011; 21(1):25-32.
36. Prosser LA, Stanley CJ, Norman TL, Park HS, Damiano DL. Comparison of elliptical training, stationary cycling, treadmill walking and overground

- walking. Electromyographic patterns. *Gait & posture*. 2011; 33(2):244-250.
37. Vollaard N, P Shearman J, Cooper C. *Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance*, 2005.
38. Prochniewicz E, Spakowicz D, Thomas DD. Changes in actin structural transitions associated with oxidative inhibition of muscle contraction. *Biochemistry*. 2008; 47(45):11811-11817.
39. Zaveri NT. Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life sciences*. 2006; 78(18):2073-2080.

PARTE III

5. DISCUSSÃO

Os experimentos propostos nesta dissertação buscaram determinar os efeitos da suplementação com extrato de chá verde sobre marcadores de dano muscular e desempenho neuromuscular em atletas amadores submetidos à fadiga acumulada por dias consecutivos de exercício extenuante. O desenho experimental para as sessões de exercício teve o objetivo de tentar replicar situações enfrentadas no esporte amador e profissional, de modo a tornar o experimento mais próximo da realidade do esporte, e com isso tendo resultados com maior aplicabilidade. Investigamos uma intervenção baseada principalmente na oferta de antioxidantes, o que notadamente é um ponto de debate na literatura científica sobre prevenção de fadiga e recuperação pós exercício, e também algo que os atletas estão diariamente expostos. Além disso, essa abordagem é importante tendo em vista que, depois da água, o chá verde é a bebida mais consumida do mundo (Khan, Mukhtar 2013), e que suas propriedades vêm despertando o interesse de investigar sua aplicação como suplementação esportiva (Jowko 2015). Como já discutido na parte II desta dissertação, nossa principal conclusão foi que a suplementação com ECV é

capaz de retardar ou inibir os efeitos da fadiga em atletas amadores submetidos à fadiga durante dois dias consecutivos. Nesta parte III, nosso objetivo é ampliar a discussão considerando algumas particularidades do estudo, algumas de nossas limitações e, principalmente, trazer uma abordagem mais reflexiva sobre as implicações diretas e indiretas dos nossos resultados.

Em nosso estudo foi possível diferenciar o efeito da pedalada por si só e da fadiga induzida pelo exercício exaustivo de quadríceps. Enquanto a pedalada não foi capaz de produzir dano muscular e estresse oxidativo, a condição de fadiga que foi induzida pelo exercício de extensão de joelho aumentou os níveis de CK no grupo placebo. Esse aumento foi intensificado pela segunda pedalada, que também causou maior peroxidação lipídica. Como visto em estudo anterior (Shing, Peake et al. 2007), a fadiga acumulada não causa acúmulo de ERO, mas nós observamos que ela gera maior vulnerabilidade no músculo na realização de uma tarefa. Essa vulnerabilidade parece ter relação com o acúmulo dos metabólitos decorrentes do dano muscular, este sim confirmado pela literatura através da análise do aumento nos níveis de CK (Hunter, Galloway et al. 2012) cujos resultados semelhantes foram verificados neste protocolo.

Ainda que a lateralidade funcional não tenha sido abordada em nosso estudo, foi possível verificar que os efeitos da fadiga na atividade elétrica do músculo apresentaram-se apenas no vasto lateral esquerdo. Em estudos prévios (Carpes, Diefenthaler et al. 2010; Carpes, Diefenthaler et al. 2011) foi visto que tanto em testes incrementais quanto em testes de carga constante a

magnitude de ativação, tal qual avaliada aqui, não apresenta assimetrias. Portanto, a manifestação de mudança na função neuromuscular observada para o quadríceps esquerdo, representado pelo vasto lateral, considerando o principal musculo produtor de potencia no ciclismo e o único que parece ser susceptível a mudanças em condições de exercícios que induzam fadiga (Bini, Carpes et al. 2008) é um importante indicativo de que nosso protocolo de fadiga teve um impacto importante no desempenho neuromuscular dos participantes do estudo, alterando a simetria da atividade elétrica dos músculos, uma importante característica do ciclismo.

A progressão da FC durante o teste é uma medida de fácil obtenção e processamento, por isso foi coletada como informação adicional. Apesar de sua praticidade, ela não é suficiente para descrever de forma completa a influência do protocolo sobre o estado cardiovascular (Zakynthinaki 2015). Ainda assim, o fato de apenas o grupo chá verde ter mantido o mesmo comportamento da FC com e sem fadiga indica mais um caminho para investigar os benefícios desse produto.

Outro ponto que merece destaque é a escolha da dosagem. Essa é uma decisão bastante difícil, pois há uma carência de estudos que indiquem dosagens recomendadas. Além disso, realizar um experimento para testar a relação dose-resposta, considerando o nosso desenho experimental, seria inviável devido a fatores como tempo de duração do estudo, número de sujeitos expostos ao protocolo e a possível alta variabilidade na resposta entre os indivíduos.

6. CONCLUSÕES

Com base nos nossos resultados podemos concluir que a suplementação com extrato de chá verde é capaz de:

1. Preservar os mesmos níveis de ativação elétrica neuromuscular dos músculos vastos laterais nas pedaladas com e sem fadiga;
2. Minimizar o dano muscular em atletas amadores submetidos a um protocolo de fadiga em dois dias consecutivos;
3. Inibir o estresse oxidativo decorrente do exercício realizado sob efeito da fadiga;
4. Preservar o mesmo comportamento da frequência cardíaca em condições com e sem fadiga.

Devido a isso, concluímos que o chá verde tem potencial de retardar ou inibir os efeitos da fadiga acumulada em atletas amadores.

7. PERSPECTIVAS

Os resultados de nosso estudo apontam para variadas perspectivas futuras que implicam sobre as aplicações práticas dos nossos resultados e também desdobramentos para estudos futuros.

Por um lado, surgem perguntas sobre que outras formas de explorar os benefícios do extrato do chá verde podem ser implementadas em atletas treinados. Uma vez que nosso protocolo de pedalada tinha tempo máximo e intensidade determinados previamente, surge a dúvida se a suplementação seria capaz de prolongar a permanência em uma situação de pedalada, visto que uma tarefa aberta mudaria a estratégia de economia de energia dos ciclistas. Nesse sentido, o objetivo seria verificar o tempo para exaustão pode ser prolongado após a suplementação. Nesse caso, poderíamos evidenciar a capacidade do extrato de chá verde em otimizar o uso de lipídios em uma situação de *endurance*. Embora essa pergunta seja válida, é importante lembrar que nosso protocolo de exercício foi desenhado para replicar condições já documentadas na literatura que investigou o perfil de demanda fisiológica e mecânica durante competições de longa duração.

Também nos questionamos se a suplementação aguda e a crônica podem diferir quanto ao resultado que encontramos. É necessário testar se alguma dosagem logo antes da prática do exercício é capaz de inibir os efeitos prejudiciais de um processo de fadiga. Essa pergunta é importante pois, apesar do extrato de chá verde na dosagem apresentada não possuir evidências de qualquer risco, a suplementação diária requer um controle maior do que uma

dosagem única. Nesse ponto, a questão sobre a dosagem de suplementação ganha ainda maior relevância.

Se a atividade elétrica neuromuscular do músculo fadigado não diferiu na condição de fadiga graças aos efeitos do extrato do chá verde, seria fundamental investigar se a capacidade de produção, e manutenção, de força também apresenta esse comportamento.

Por outro lado, também é preciso investigar se há potenciais efeitos negativos da suplementação com extrato de chá verde, especialmente sobre os mecanismos de adaptação ao exercício e treinamento. A magnitude das propriedades antioxidantes do extrato de chá verde geram questionamento quanto à sua potencial ação inibidora da hipertrofia muscular, tendo em vista que a produção de dano muscular e de espécies reativas de oxigênio são parte fundamental da sinalização necessária para a hipertrofia.

Ademais, seria importante investigar se o período de suplementação com antioxidantes gera uma adaptação nos participantes a ponto de inibir a produção de antioxidantes endógenos, o que seria prejudicial.

8. REFERÊNCIAS

- Abbiss, C. R. and P. B. Laursen (2005). "Models to explain fatigue during prolonged endurance cycling." Sports Med 35(10): 865-898.
- Altermann, C. D. C., M. A. Souza, et al. (2017). "Short-term green tea supplementation prevents recognition memory deficits and ameliorates hippocampal oxidative stress induced by different stroke models in rats." Brain Res Bull 131: 78-84.
- Armstrong, R. B., G. L. Warren, et al. (1991). "Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury." Sports Med 12(3): 184-207.
- Barry, B. K. and R. M. Enoka (2007). "The neurobiology of muscle fatigue: 15 years later." Integr Comp Biol 47(4): 465-473.
- Beck, K. L., J. S. Thomson, et al. (2015). "Role of nutrition in performance enhancement and postexercise recovery." Open Access J Sports Med 6: 259-267.
- Beiter, T., M. Hoene, et al. (2015). "Exercise, skeletal muscle and inflammation: ARE-binding proteins as key regulators in inflammatory and adaptive networks." Exerc Immunol Rev 21: 42-57.
- Benzie, I. F., Y. T. Szeto, et al. (1999). "Consumption of green tea causes rapid increase in plasma antioxidant power in humans." Nutr Cancer 34(1): 83-87.
- Betteridge, D. J. (2000). "What is oxidative stress?" Metabolism 49(2 Suppl 1): 3-8.

- Bini, R. R., F. P. Carpes, et al. (2008). "Physiological and electromyographic responses during 40-km cycling time trial: relationship to muscle coordination and performance." J Sci Med Sport 11(4): 363-370.
- Bini, R. R., F. P. Carpes, et al. (2008). "Physiological and electromyographic responses during 40-km cycling time trial: relationship to muscle coordination and performance." J Sci Med Sport 11(4): 363-370.
- Bini, R. R., F. Dagnese, et al. (2016). "Three-dimensional kinematics of competitive and recreational cyclists across different workloads during cycling." Eur J Sport Sci 16(5): 553-559.
- Brancaccio, P., N. Maffulli, et al. (2008). "Serum enzyme monitoring in sports medicine." Clin Sports Med 27(1): 1-18, vii.
- Broker, R. J. (2003). Cycling biomechanics: road and mountain. High Tech Cycling. E. R. Burke. Champaign, Human Kinetics: 119-174.
- Brophy-Williams, N., M. W. Driller, et al. (2017). "Effect of Compression Socks Worn Between Repeated Maximal Running Bouts." Int J Sports Physiol Perform 12(5): 621-627.
- Burke, E. R. (2003). Fisiologia do Ciclismo. A ciência do exercício e dos esportes. K. D. GARRET WE. Porto Alegre, Artmed: 745-757.
- Carpes, F. P., F. Diefenthaler, et al. (2010). "Does leg preference affect muscle activation and efficiency?" J Electromyogr Kinesiol 20(6): 1230-1236.
- Carpes, F. P., F. Diefenthaler, et al. (2011). "Influence of leg preference on bilateral muscle activation during cycling." J Sports Sci 29(2): 151-159.

- Carpes, F. P., C. B. Mota, et al. (2010). "On the bilateral asymmetry during running and cycling - a review considering leg preference." Phys Ther Sport 11(4): 136-142.
- Carpes, F. P., M. Rossato, et al. (2007a). Influence of exercise intensity on bilateral pedaling symmetry. Progress in Motor Control IV. M. Duarte and G. L. Almeida. São Paulo, Brazil, Human Kinetics. 11: S54-55.
- Chapman, A. R., B. Vicenzino, et al. (2006). "Leg muscle recruitment in highly trained cyclists." J Sports Sci 24(2): 115-124.
- Dankel, S. J., K. T. Mattocks, et al. (2017). "Do metabolites that are produced during resistance exercise enhance muscle hypertrophy?" Eur J Appl Physiol 117(11): 2125-2135.
- Del Coso, J., C. Gonzalez-Millan, et al. (2012). "Muscle damage and its relationship with muscle fatigue during a half-iron triathlon." PLoS One 7(8): e43280.
- Diefenthaler, F., E. F. Coyle, et al. (2012). "Muscle activity and pedal force profile of triathletes during cycling to exhaustion." Sports Biomech 11(1): 10-19.
- Diefenthaler, F. and M. A. Vaz (2008). "Aspectos relacionados à fadiga durante o ciclismo: uma abordagem biomecânica." Revista Brasileira de Medicina do Esporte 14: 472-477.
- Ellinger, S., N. Muller, et al. (2011). "Consumption of green tea or green tea products: is there an evidence for antioxidant effects from controlled interventional studies?" Phytomedicine 18(11): 903-915.
- Enoka, R. M. and J. Duchateau (2008). "Muscle fatigue: what, why and how it influences muscle function." J Physiol 586(1): 11-23.

- Enoka, R. M. and D. G. Stuart (1992). "Neurobiology of muscle fatigue." J Appl Physiol (1985) 72(5): 1631-1648.
- Flores, M. F., A. Martins, et al. (2014). "Effects of green tea and physical exercise on memory impairments associated with aging." Neurochem Int 78: 53-60.
- Forester, S. C. and J. D. Lambert (2011). "The role of antioxidant versus pro-oxidant effects of green tea polyphenols in cancer prevention." Mol Nutr Food Res 55(6): 844-854.
- Friden, J. and R. L. Lieber (1992). "Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury." Med Sci Sports Exerc 24(5): 521-530.
- Golich, D. and J. Broker (1996). "SRM bicycle instrumentation and the power output of elite male cyclists during the 1994 Tour Dupont." Perform Cond Cycling 2(9): 6.
- Goto, K., S. Mizuno, et al. (2017). "Efficacy of wearing compression garments during post-exercise period after two repeated bouts of strenuous exercise: a randomized crossover design in healthy, active males." Sports Med Open 3(1): 25.
- Gregor, R. J. and J. B. Wheeler (1994). "Biomechanical factors associated with shoe/pedal interfaces. Implications for injury." Sports Med 17(2): 117-131.
- Guszkowska, M. (2004). "[Effects of exercise on anxiety, depression and mood]." Psychiatr Pol 38(4): 611-620.
- Hargreaves, M., M. J. McKenna, et al. (1998). "Muscle metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise." J Appl Physiol (1985) 84(5): 1687-1691.

- Hill, M. W., M. F. Higgins, et al. (2016). "The effect of high-intensity cycling training on postural sway during standing under rested and fatigued conditions in healthy young adults." Eur J Appl Physiol 116(10): 1965-1974.
- Hultman, E., L. L. Spriet, et al. (1986). "Biochemistry of muscle fatigue." Biomed Biochim Acta 45(1-2): S97-106.
- Hunter, A. M., S. D. Galloway, et al. (2012). "Assessment of eccentric exercise-induced muscle damage of the elbow flexors by tensiomyography." J Electromyogr Kinesiol 22(3): 334-341.
- Jowko, E. (2015). Green Tea Catechins and Sport Performance. Antioxidants in Sport Nutrition. M. Lamprecht. Boca Raton (FL).
- Khan, N. Mukhtar, H. (2013). " Tea and Health: Studies in Humans." Curr Pharm Des 19(34): 6141-6147.
- Kuo, Y. C., J. C. Lin, et al. (2015). "Green tea extract supplementation does not hamper endurance-training adaptation but improves antioxidant capacity in sedentary men." Appl Physiol Nutr Metab 40(10): 990-996.
- Lanferdini, F. J., R. R. Bini, et al. (2017). "Low-Level Laser Therapy Improves Performance and Reduces Fatigue in Competitive Cyclists." Int J Sports Physiol Perform: 1-27.
- Laplaud, D., F. Hug, et al. (2006). "Reproducibility of eight lower limb muscles activity level in the course of an incremental pedaling exercise." J Electromyogr Kinesiol 16(2): 158-166.
- Lucia, A., J. Hoyos, et al. (2001). "Physiology of professional road cycling." Sports Med 31(5): 325-337.

- Malm, C. (2001). "Exercise-induced muscle damage and inflammation: fact or fiction?" Acta Physiol Scand 171(3): 233-239.
- Martins, A., H. L. Schmidt, et al. (2017). "Supplementation with different teas from *Camellia sinensis* prevents memory deficits and hippocampus oxidative stress in ischemia-reperfusion." Neurochem Int 108: 287-295.
- Mieras, M. E., M. W. Heesch, et al. (2014). "Physiological and psychological responses to outdoor vs. laboratory cycling." J Strength Cond Res 28(8): 2324-2329.
- Moritani, T., M. Muro, et al. (1986). "Intramuscular and surface electromyogram changes during muscle fatigue." J Appl Physiol 60(4): 1179-1185.
- Noakes, T. D. (1987). "Effect of exercise on serum enzyme activities in humans." Sports Med 4(4): 245-267.
- Oja, P., S. Titze, et al. (2011). "Health benefits of cycling: a systematic review." Scand J Med Sci Sports 21(4): 496-509.
- Padilla, S., I. Mujika, et al. (2000). Exercise intensity during competition time trials in professional road cycling.
- Padilla, S., I. Mujika, et al. (2008). "Exercise intensity and load during uphill cycling in professional 3-week races." Eur J Appl Physiol 102(4): 431-438.
- Panza, V. S., E. Wazlawik, et al. (2008). "Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men." Nutrition 24(5): 433-442.
- Pasiakos, S. M., H. R. Lieberman, et al. (2014). "Effects of protein supplements on muscle damage, soreness and recovery of muscle function and physical performance: a systematic review." Sports Med 44(5): 655-670.

- Poppendieck, W., M. Wegmann, et al. (2016). "Massage and Performance Recovery: A Meta-Analytical Review." Sports Med 46(2): 183-204.
- Prochniewicz, E., D. Spakowicz, et al. (2008). "Changes in actin structural transitions associated with oxidative inhibition of muscle contraction." Biochemistry 47(45): 11811-11817.
- Purcell, L. K. (2013). "Sport nutrition for young athletes." Paediatr Child Health 18(4): 200-205.
- Roberts, L. A., T. Raastad, et al. (2015). "Post-exercise cold water immersion attenuates acute anabolic signalling and long-term adaptations in muscle to strength training." J Physiol 593(18): 4285-4301.
- Rodriguez-Marroyo, J. A., J. G. Villa, et al. (2017). "Decrement in Professional Cyclists' Performance After a Grand Tour." International Journal of Sports Physiology and Performance 12(10): 1348-1355.
- Rossato, M., R. R. Bini, et al. (2008). "Cadence and workload effects on pedaling technique of well-trained cyclists." Int J Sports Med 29(9): 746-752.
- Savage, R. J., B. S. Lay, et al. (2017). "Prolonged running increases knee moments in sidestepping and cutting manoeuvres in sport." J Sci Med Sport.
- Schmidt, H. L., A. Garcia, et al. (2017). "Green tea supplementation produces better neuroprotective effects than red and black tea in Alzheimer-like rat model." Food Res Int 100(Pt 1): 442-448.
- Schmidt, H. L., A. Vieira, et al. (2014). "Memory deficits and oxidative stress in cerebral ischemia-reperfusion: neuroprotective role of physical exercise and green tea supplementation." Neurobiol Learn Mem 114: 242-250.

- Shing, C. M., J. M. Peake, et al. (2007). "The effect of consecutive days of exercise on markers of oxidative stress." Appl Physiol Nutr Metab 32(4): 677-685.
- Silva, W. d. (2017). Efeito da suplementação com extrato de chá verde sobre o dano muscular e dor muscular de início tardio. Mestrado em Bioquímica Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Pampa.
- Soares, M. B., J. B. Ramalho, et al. (2017). "Comparative effect of *Camellia sinensis* teas on object recognition test deficit and metabolic changes induced by cafeteria diet." Nutr Neurosci: 1-10.
- Somerville, V., C. Bringans, et al. (2017). "Polyphenols and Performance: A Systematic Review and Meta-Analysis." Sports Med 47(8): 1589-1599.
- Steinbacher, P. and P. Eckl (2015). "Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle." Biomolecules 5(2): 356-377.
- Stewart, R. D., T. A. Duhamel, et al. (2008). "Effects of consecutive days of exercise and recovery on muscle mechanical function." Med Sci Sports Exerc 40(2): 316-325.
- Tam, N., D. R. Coetsee, et al. (2017). "Acute fatigue negatively affects risk factors for injury in trained but not well-trained habitually shod runners when running barefoot." Eur J Sport Sci 17(9): 1220-1229.
- Tosovic, D., C. Than, et al. (2016). "The effects of accumulated muscle fatigue on the mechanomyographic waveform: implications for injury prediction." Eur J Appl Physiol 116(8): 1485-1494.
- Totsuka, M., S. Nakaji, et al. (2002). "Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise." Journal of Applied Physiology 93(4): 1280.

- Vollaard, N., J. P. Shearman, et al. (2005). Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance.
- Westerblad, H., D. G. Allen, et al. (2002). "Muscle fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major cause?" News Physiol Sci 17: 17-21.
- Yamane, M., H. Teruya, et al. (2006). "Post-exercise leg and forearm flexor muscle cooling in humans attenuates endurance and resistance training effects on muscle performance and on circulatory adaptation." Eur J Appl Physiol 96(5): 572-580.
- Zakynthinaki, M. S. (2015). "Modelling heart rate kinetics." PLoS One 10(4): e0118263.
- Zaveri, N. T. (2006). "Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications." Life Sci 78(18): 2073-2080.

ANEXOS

Anexo I – Normas da Revista

Journal of Science and Medicine in Sport

Preparation of Manuscripts

- Microsoft Word is the preferred software program. Use Arial or Times New Roman font, size eleven (11) point.
- Manuscript is double-spaced throughout (including title page, abstract, text, references, tables, and legends).
- Margins are 1 inch or 2.5 cm all around
- Include page and line numbers for the convenience of the peer reviewers.
- Number the pages consecutively, beginning with the title page as page 1 and ending with the Figure legend page.
- All headings (including the Title) should be in sentence-case only, not in capital letters.
- Sub-headings are generally not accepted. Incorporate into the text if required.
- Footnotes are not acceptable.
- Keep the use of tables, figures and graphs to a minimum.
- See notes on Tables, Figures, Formulae and Scientific Terminology at the end.

WORD COUNT LIMITS Original Research papers

- 3000 word count limit (excluding title, abstract, tables/figures, figure legends, Acknowledgements, and References)
- Maximum number (combined) of tables and figures is 3
- Long tables should only be included as supplementary material and will be made available on-line only
- Maximum number of references is 30
- A structured abstract of less than 250 words (not included in 3000 word count) should be included with the following headings: Objectives, Design, Method, Results, and Conclusions

Review articles

- 4000 word count limit (excluding title, abstract, tables/figures, figure legends, Acknowledgements, and References)
- Maximum number (combined) of tables and figures is 3
- Long tables should only be included as supplemental files and will be available online only
- Maximum number of references is 60
- A structured abstract of less than 250 words (not included in 4000 word count) should be included sticking as closely as possible to the following headings: Objectives, Design, Method, Results, and Conclusions

Structure of the Manuscript (in order):

1. Cover Letter - Every submission, regardless of category must include a letter stating:

- The category of article: Original Research or Review article

- The sub-discipline: sports medicine, sports injury (including injury epidemiology and injury prevention), physiotherapy, podiatry, physical activity and health, sports science, biomechanics, exercise physiology, motor control and learning, sport and exercise psychology, sports nutrition, public health (as relevant to sport and exercise), rehabilitation and injury management, and others having an interdisciplinary

perspective with specific applications to sport and exercise and its interaction with health.

- Sources of outside support for research (including funding, equipment and drugs) must be named.
- Financial support for the project must be acknowledged, or "no external financial support" declared.
- The role of the funding organisation, if any, in the collection of data, their analysis and interpretation, and in the right to approve or disapprove publication of the finished manuscript must be described in the Methods section of the text
- When the proposed publication concerns any commercial product, either directly or indirectly, the author must include a statement (1) indicating that he or she has no financial or other interest in the product or distributor of the product or (2) explaining the nature of any relation between himself or herself and the manufacturer or distributor of the product.
- Other kinds of associations, such as consultancies, stock ownership, or other equity interests or patent-licensing arrangements, also must be disclosed. Note: If, in the Editor's judgment, the information disclosed represents a potential conflict of interest, it may be made available to reviewers and may be published at the Editor's discretion; authors will be informed of the decision before publication.
- The Ethical Guidelines that have been followed must be stated clearly. Provide the Ethics Committee name and approval number obtained for Human investigation.
- Authors must declare that manuscripts submitted to the Journal have not been published elsewhere or are not being considered for publication elsewhere and that the research reported will not be submitted for publication elsewhere until a final decision has been made as to its acceptability by the Journal.

Permission from the copyright holder (typically the publisher) must be submitted to the Editorial Office for the reproduction of any previously published table(s), illustration(s) or photograph(s). Permission must be valid for reuse in both print and electronic formats. Appropriate consents must also be obtained for any patient images appearing in your manuscript. [OPTIONAL: For Elsevier's patient consent policy, please visit www.elsevier.com/about/company-information/policies/patient-consent.]

2. Title Page (first page) should contain:

- a. Title. Short and informative
- b. Authors. List all authors by first name, all initials and family name
- c. Institution and affiliations. List the name and full address of all institutions where the study described was carried out. List departmental affiliations of each author affiliated with that institution after each institutional address. Connect authors to departments using alphabetical superscripts.

d. Corresponding author. Provide the name and e-mail address of the author to whom communications, proofs and requests for reprints should be sent.

e. Word count (excluding abstract and references), the Abstract word count, the number of Tables, the number of Figures.

Appropriate consents must also be obtained for any patient images appearing in your manuscript. [OPTIONAL: For Elsevier's patient consent policy, please visit Patient consent.]

2. Title Page (first page) should contain:

a. Title. Short and informative

b. Authors. List all authors by first name, all initials and family name

c. Institution and affiliations. List the name and full address of all institutions where the study described was carried out. List departmental affiliations of each author affiliated with that institution after each institutional address. Connect authors to departments using alphabetical superscripts.

d. Corresponding author. Provide the name and e-mail address of the author to whom communications, proofs and requests for reprints should be sent.

e. Word count (excluding abstract and references), the Abstract word count, the number of Tables, the number of Figures.

3. Manuscript (excluding all author details) should contain: (in order)

a. Abstract - must be structured using the following sub-headings: Objectives, Design, Methods, Results, and Conclusions. Avoid abbreviations and acronyms.

b. Keywords - provide up to 6 keywords, with at least 4 selected via the Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH) browser list: Medical Subject Headings..These keywords should not reproduce words used in the paper title. c. Main body of the text.

For Original Research papers, text should be organised as follows:

i. Introduction - describing the (purpose of the study with a brief review of background

ii. Methods - described in detail. Include details of the Ethics Committee approval obtained for Human investigation, and the ethical guidelines followed by the investigators. This section is not called Materials and Methods, and should not include subheadings. Do not use the term "subjects" - use terms such as "participants", "patients" or "athletes", etc.

iii. Results - concisely reported in tables and figures, with brief text descriptions. Do not include subheadings. Use small, non-italicized letter p for p-values with a leading zero, e.g. 0.05; Measurements and weights should be given in standard metric units. Do not replicate material that is in the tables or figures in the text.

iv. Discussion - concise interpretation of results. Cite references, illustrations and tables in numeric order by order of mention in the text. Do not include subheadings.

v. Conclusion

vi. Practical Implications - 3 to 5 dot (bulleted) points summarising the practical findings derived from the study to the real-world setting of sport and exercise - that can be understood by a lay audience. Avoid overly scientific terms and abbreviations. Dot points should not include recommendations for further research.

vii. Acknowledgments - this section is compulsory. Grants, financial support and technical or other assistance are acknowledged at the end of the text before the references. All financial support for the project must be acknowledged. If there has been no financial assistance with the project, this must be clearly stated.

viii. References - authors are responsible for the accuracy of references.

ix. Tables - may be submitted at the end of the text file, on separate pages, one to each page.

x. Figure Legends - must be submitted as part of the text file and not as illustrations.

4. Figures - must be submitted as one or more separate files that may contain one or more images.

5. Supplementary material (if any) - tables or figures to be viewed online only.

Peer Review

The journal receives an ever-increasing number of submissions and unfortunately can only publish a small proportion of manuscripts. The journal's Editorial Board does not enter into negotiations once a decision on a manuscript has been made. The Editor's decision is final. The entire peer-review process will be managed electronically to ensure timely review and publication. Authors can expect an initial decision on their submission within 6 weeks.

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the

names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUPAP: Symbols, Units, Nomenclature and Fundamental Constants in Physics for further information.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed

Illustration services

Elsevier's WebShop offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in-press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference Style

- References should be numbered consecutively in un-bracketed superscripts where they occur in the text, tables, etc, and listed numerically (e.g. "1", "2") at the end of the paper under the heading "References".

- For Original Research papers, no more than three references should be used to support a specific point in the text.
- All authors should be listed where there are three or fewer. Where there are more than three, the reference should be to the first three authors followed by the expression "et al".
- Book and journal titles should be in italics.
- Conference and other abstracts should not be used as references. Material referred to by the phrase "personal communication" or "submitted for publication" are not considered full references and should only be placed in parentheses at the appropriate place in the text (e.g., (Hessel 1997 personal communication). References to articles submitted but not yet accepted are not encouraged but, if necessary, should only be referred to in the text as "unpublished data".
- Footnotes are unacceptable.
- Book references: Last name and initials of author, chapter title, chapter number, italicised title of book, edition (if applicable), editor, translator (if applicable), place of publication, publisher, year of publication. Example: Wilk KE, Reinold MM, Andrews JR. Interval sport programs for the shoulder, Chapter 58, in *The Athlete's Shoulder*, 2nd ed., Philadelphia, Churchill Livingstone, 2009

- Journal references:

Last name and initials of principal author followed by last name(s) and initials of co-author(s), title of article (with first word only starting in capitals), abbreviated and italicised title of journal, year, volume (with issue number in parenthesis if applicable), inclusive pages.

For guidance on abbreviations of journal titles, see Index Medicus at www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html.

Example:

Hanna CM, Fulcher ML, Elley CR et al. Normative values of hip strength in adult male association football players assessed by handheld dynamometry. *J Sci Med Sport* 2010; 13(3):299-303.

- Internet references should be as follows:

Health Care Financing Administration. 1996 statistics at a glance. Available at: <http://www.hcfa.gov/stats/stathili.htm>. Accessed 2 December 1996.

- Articles in Press are cited using a DOI: <http://www.doi.org>. The correct format for citing a DOI is as follows: doi:10.1016/j.jsams.2009.10.104.

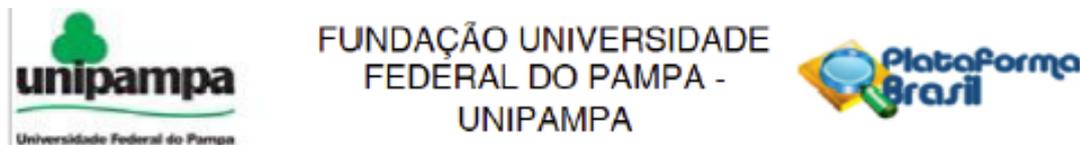
Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Anexo II – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Pampa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DO CHÁ VERDE SOBRE O DESEMPENHO ESPORTIVO E O DANO MUSCULAR ASSOCIADO AO TREINAMENTO FÍSICO

Pesquisador: Felipe Pivetta Carpes

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 60376216.4.0000.5323

Instituição Proponente: Fundação Universidade Federal do Pampa UNIPAMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.236.253

Apresentação do Projeto:

De acordo com o proponente:

O ciclismo é uma atividade esportiva amplamente indicada por profissionais devido à sua contribuição na prevenção de diversas doenças. Esse esporte pode ser praticado em diferentes intensidades, sendo as mais altas as que produzem maior dano muscular e fadiga. Juntos, esses eventos prejudicam o desempenho esportivo e favorecem a ocorrência de lesões. Nesse contexto, a suplementação com extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) surge como alternativa, visto que possui verificada atividade antioxidante, anti-inflamatória, o que contribui para promover a remoção de metabólitos do pós-exercício. Os estudos demonstram que suas propriedades melhoram desempenho de atletas que passaram por um protocolo de fadiga em comparação a

grupos placebo, mas esses protocolos não reproduzem a realidade do cotidiano de um ciclista, visto que frequentemente é necessário passar por mais de uma sessão extenuante em um curto período, sem ter o tempo de repouso necessário para se recuperar do dano causado na sessão previamente realizada. Essa situação pode ser mimetizada por um período onde sessões subseqüentes de treinamento são realizadas. Então, o extrato de chá verde tem potencial para promover a regeneração muscular e manter o alto rendimento sob uma demanda De acordo com o proponente:

Endereço: Campus Uruguaiana BR 472, Km 592
Bairro: Prédio Administrativo - Sala 23 - Caixa **CEP:** 97.500-970
UF: RS **Município:** URUGUAIANA
Telefone: (55)3911-0202 **E-mail:** cep@unipampa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.235.253

O ciclismo é uma atividade esportiva amplamente indicada por profissionais devido à sua contribuição na prevenção de diversas doenças. Esse esporte pode ser praticado em diferentes intensidades, sendo as mais altas as que produzem maior dano muscular e fadiga. Juntos, esses eventos prejudicam o desempenho esportivo e favorecem a ocorrência de lesões. Nesse contexto, a suplementação com extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) surge como alternativa, visto que possui verificada atividade antioxidante, anti-inflamatória, o que contribui para promover a remoção de metabólitos do pós-exercício. Os estudos demonstram que suas propriedades melhoram desempenho de atletas que passaram por um protocolo de fadiga em comparação a

grupos placebo, mas esses protocolos não reproduzem a realidade do cotidiano de um ciclista, visto que frequentemente é necessário passar por mais de uma sessão extenuante em um curto período, sem ter o tempo de repouso necessário para se recuperar do dano causado na sessão previamente realizada. Essa situação pode ser mimetizada por um período onde sessões subsequentes de treinamento são realizadas. Então, o extrato de chá verde tem potencial para promover a regeneração muscular e manter o alto rendimento sob uma demanda.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Verificar os efeitos da suplementação com extrato de chá verde a ciclistas sob protocolos recorrentes de fadiga em biomarcadores de fadiga, dano muscular e em eficiência neuromuscular.

Objetivo Secundário:

- Verificar a capacidade de imediata remoção de biomarcadores de dano muscular (CK e LDH), modulação de estresse oxidativo (ERO, CAT e peroxidação lipídica) e inflamatório (IL-6) nos minutos seguintes a um protocolo de indução a fadiga, comparando participantes com e sem suplementação com extrato de chá verde em diferentes momentos da suplementação. Comparar a capacidade de remoção de biomarcadores de dano muscular, modulação de estresse oxidativo e inflamatório antes e após um período de suplementação com extrato de chá verde.

Endereço: Campus Uruguaiana BR 472, Km 592

Bairro: Prédio Administrativo - Sala 23 - Caixa

CEP: 97.500-970

UF: RS

Município: URUGUAIANA

Telefone: (55)3911-0202

E-mail: csp@unipampa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.236.253

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não é possível garantir isenção de riscos à saúde dos participantes. Há risco de experimentar dor muscular decorrentes do exercício, causando desconforto ao movimento do segmento afetado e à palpação da musculatura envolvida. Nestes casos, o participante será orientado por um fisioterapeuta em relação a tarefas que possa realizar para auxiliar na recuperação. Contudo, a dor muscular que pode ser sentida não será maior do que aquela que o participante está acostumado a experimentar como resultando de sua frequência de treinamentos. Também há risco de reação adversa decorrente da suplementação, tal como reações idiossincráticas e raramente de hepatotoxicidade, porém em dosagens, concentrações e período de consumo superiores às do nosso estudo (Mazzanti, 2015). Caso ocorra alguma reação adversa, estarão disponíveis para realizar atendimento um médico e um nutricionista.

Benefícios:

Existe potencial benefício no rendimento esportivo e de evitar dor muscular decorrente do exercício como resultado da suplementação. Além disso, os participantes receberão relatórios completos de suas avaliações e que servirão para aprimorar seus treinamentos. Nenhuma das atividades ou avaliações terá custo ao participante. Para os participantes serão disponibilizados dados referentes a seu desempenho esportivo

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto:OK

Endereço: Campus Uruguaiana BR 472, Km 592
Bairro: Prédio Administrativo - Sala 23 - Caixa CEP: 97.500-970
UF: RS Município: URUGUAIANA
Telefone: (55)3911-0202 E-mail: cep@unipampa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.236.253

Autorização ao participante: Dispensado

TCLE: OK

Termo de confidencialidade: OK

Recomendações:

As recomendações do parecer 2.218.109 foram atendidas

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações

Considerações Finais a critério do CEP:

A entrega de relatórios é responsabilidade do pesquisador.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_758013.pdf	15/08/2017 17:39:43		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_assinada.pdf	15/08/2017 17:36:28	Willian da Silva	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Carta_resposta_4.pdf	27/06/2017 08:39:38	Felipe Pivetta Carpes	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE4.doc	27/06/2017 08:35:35	Felipe Pivetta Carpes	Aceito
Outros	declaracao.pdf	05/12/2016 20:34:35	Alvaro Sosa Machado	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_de_confidencialidade.JPG	08/11/2016 09:39:31	Felipe Pivetta Carpes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_FADIGA_GT_Alvaro.pdf	05/09/2016 15:20:48	Felipe Pivetta Carpes	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Campus Uruguiana BR 472, Km 592
Bairro: Prédio Administrativo - Sala 23 - Caixa
UF: RS Município: URUGUAIANA
Telefone: (55)3911-0202
CEP: 97.500-070
E-mail: cep@unipampa.edu.br

URUGUAIANA, 23 de Agosto de 2017

Assinado por:
JUSSARA MENDES LIPINSKI
(Coordenador)

Endereço: Campus Uruguaiana BR 472, Km 592
Bairro: Prédio Administrativo - Sala 23 - Caixa
UF: RS Município: URUGUAIANA
Telefone: (55)3911-0202 E-mail: cep@unipampa.edu.br