

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE O DANO
MUSCULAR E DOR MUSCULAR DE INÍCIO TARDIO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Willian da Silva

Uruguaiiana, RS, Brasil

2017

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE O DANO
MUSCULAR E DOR MUSCULAR DE INÍCIO TARDIO**

por

Willian da Silva

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.**

Orientador: Prof. Dr. Felipe Pivetta Carpes

Coorientadora: Profa. Dra. Mauren Assis de Souza

Uruguaiana, RS, Brasil

2017

Universidade Federal do Pampa
Programa de Pós-graduação em Bioquímica

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE O DANO
MUSCULAR E DOR MUSCULAR DE INÍCIO TARDIO**

Elaborada por

Willian da Silva

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioquímica

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Felipe Pivetta Carpes
(Presidente, orientador)

Prof. Dr. Leonardo Magno Rambo
(Universidade Federal do Pampa/UNIPAMPA/RS-BRASIL)

Prof. Dr. Ulysses Fernandes Ervilha
(Universidade de São Paulo/USP/SP-BRASIL)

Uruguaiana, RS, Brasil
2017

*A Deus por ter guiado meus passos até o presente
momento, à minha família, em especial meus
pais Isaías e Maria, ao meu orientador
professor Dr. Felipe Pivetta Carpes e ao meu
Grupo de Pesquisa em Neuromecânica
Aplicada (GNAP).*

AGRADECIMENTOS

Enfim chega o grande dia, o dia da minha defesa de dissertação de mestrado. E eu só tenho a agradecer. Agradecer as pessoas que fizeram parte desta caminhada e contribuíram para que este projeto tenha sido realizado. Estes dois últimos anos foram os anos mais intensos e produtivos da minha vida. Um grande desafio para mim, e com certeza, foram anos de muito aprendizado, desafios e crescimento, tanto a nível pessoal como profissional.

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por tudo que tenho em minha vida, por ter me dado saúde e guiado meus passos até este dia. Agradecer aos meus familiares, meus pais Isaias e Maria, os quais sempre fizeram de tudo para me dar uma educação de qualidade, amor e carinho incondicional, juntamente com meu irmão Charles e meu sobrinho Arthur. A minha namorada Tatiane muito obrigado pelo apoio, amor e companheirismo.

Gostaria de agradecer ao meu orientador professor Dr. Felipe Pivetta Carpes pela oportunidade de ser seu orientando, por ter acreditado em meu potencial para desenvolver este trabalho. Pela paciência e auxílio durante os inúmeros momentos de dúvida. Sem a sua orientação não estaria aqui neste momento. Obrigado por nos ensinar diariamente a importância de se fazer algo com qualidade, a importância de buscar sempre a excelência. O senhor é o maior exemplo profissional e pessoal para nós, alunos. Meu muito obrigado.

Agradeço minha co-orientadora professora Dra. Mauren A. de Souza, que foi essencial para a realização deste trabalho. Muito obrigado pela ajuda, amizade, paciência e auxílio incansável durante estes dois anos de mestrado.

Sem você este trabalho não seria possível. És uma pessoa que admiro muito como exemplo de profissional e pessoa. Muito obrigado.

Agradeço ao meu colega de grupo de pesquisa e mestrado, Álvaro Sosa Machado, muito obrigado por ser este amigo leal e companheiro. Obrigado Álvaro pela ajuda nos momentos de coleta, pelas inúmeras dicas e ajuda incansável nos momentos difíceis. Obrigado por me fazer entender o caminho para ser um cientista sério e dedicado.

Agradeço à professora Dra. Pamela Billig Mello Carpes, que cedeu o laboratório e proveu recursos financeiros para a coleta de dados e nos auxiliou durante toda esta caminhada. Meu muito obrigado. Agradeço à colega de mestrado e amiga Juliana Campodonico. Muito obrigado pela ajuda incansável durante os experimentos e momentos difíceis, sempre se colocando a disposição para nos auxiliar. A minha amiga e colega Helen Lidiane Schmidt, meu muito obrigado pela ajuda, auxílio e incentivo para minha entrada na pós-graduação. Muito obrigado, Helen.

Ao meu Grupo de Pesquisa em Neuromecânica Aplicada (GNAP), a todos os colegas do grupo que além de colegas de trabalho são amigos que levarei para vida toda, vocês fazem parte deste trabalho, meu muito obrigado. Obrigado Marcos Kunzler por nos auxiliar diariamente no laboratório e pelas inúmeras dicas e ajuda; meu muito obrigado.

As colegas da enfermagem e farmácia que nos auxiliaram nas coletas de sangue, a Eliane, Sonia e Andressa. Aos amigos e colegas do Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPFIS). Ao Jefferson Menezes e minha afilhada Mirela, e a todos meus amigos, e a todas as pessoas que contribuíram direta e indiretamente na realização deste trabalho.

RESUMO

Universidade Federal do Pampa
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica
Dissertação de Mestrado

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE O DANO MUSCULAR E DOR MUSCULAR DE INÍCIO TARDIO

Autor: Willian da Silva
Orientadora: Dr. Felipe Pivetta Carpes
Local e data da defesa: Uruguaiana, 28 de Novembro de 2017

O extrato de chá verde possui potencial antioxidante e anti-inflamatório, que pode contribuir para recuperar o equilíbrio metabólico e estresse oxidativo pós-exercício intenso, colaborando assim para diminuir episódios de dor muscular de início tardio (DMIT). Neste estudo, buscamos determinar os efeitos da suplementação com extrato de chá verde sobre a DMIT, dano muscular e oxidativo e status antioxidante. Em um ensaio randomizado, triplo cego, placebo controle, 20 homens não treinados com idade média de 24 (± 5) anos realizaram exercício para indução da DMIT no tríceps sural antes e depois de 15 dias de suplementação com extrato de chá verde (500 mg/dia) (GT, n=10) ou placebo (PL, n=10). A DMIT foi determinada pela escala visual analógica de dor (pré e pós-suplementação) antes, imediatamente após e 48 horas após o exercício. Amostras sanguíneas foram tomadas para determinar marcadores bioquímicos de dano muscular como creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e marcadores de estresse oxidativo como níveis de malondialdeído (TBARS), produção de espécies reativas de oxigênio (DCFH-DA), juntamente com a carbonilação de proteínas e status antioxidante como capacidade antioxidante total do plasma (FRAP) e atividade da glutatona (GSH) além da atividade da acetilcolinesterase (AChE). O exercício induziu DMIT e a suplementação com GT reduziu um marcador de dano estrutural (CK), mas não atenuou a DMIT e marcadores de estresse oxidativo e status antioxidante. Este efeito protetivo ao dano estrutural interessa especialmente ao uso desta suplementação como possível fator adjunto para a prevenção de dano muscular e auxílio na recuperação de esforços intensos.

Palavras chaves: Estresse oxidativo; Exercício excêntrico; Antioxidantes; Lesão muscular; Treinamento; Fadiga; Tríceps sural.

ABSTRACT

Federal University of Pampa
Graduate Program in Biochemistry
Master Dissertation

EFFECT OF GREEN TEA SUPPLEMENTATION ON MUSCLE DAMAGE AND MUSCLE SORENESS

Author: Willian da Silva
Advisor: Felipe Pivetta Carpes, PhD
Place and date: Uruguaiana, November 28th, 2017

Green tea extracts supplementation (GT) is recognized as a source of antioxidants and anti-inflammatory substances that may contribute to the recovery after intense exercise when muscle soreness (MS) occurs. In this study we determine the effects of GT on MS, muscle damage, oxidative stress and antioxidant status. Here we present a randomized trial triple blind placebo control including 20 adults aged 25 (5) years and physically active that underwent sessions exercise for induction of muscle damage in the *triceps sural* before and after 15 days of supplementation with GT at dose of 500 mg/day (GT, n=10) or placebo (PL, n=10). MS was determined using a visual analogic scale. Blood samples were collected to determination of biochemical markers of damage considering activity of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH), oxidative stress considering levels of malondialdehyde (TBARS), reactive species of oxygen (DCFH), protein carbonylation, and antioxidant status considering total antioxidant capacity (FRAP), glutathione activity (GSH), and acetylcholinesterase (AChE) activity. Exercise induced MS and GT reduces a marker of structural muscle damage without effects on oxidative stress and antioxidant status. This protective effect may be support the use of this supplementation as a possible correlate strategy to prevent muscle damage and therefore contribute to the recovery of intense exercise.

Keywords: Oxidative stress; Eccentric exercise; Antioxidants; Muscle injury; Training; Fatigue; Triceps sural.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho experimental. TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido; DMIT: dor muscular de início tardio; EVA: escala visual analógica.

Figura 2. Dor muscular de início tardio determinada pela EVA livre (superior), EVA mensurada na palpação (centro) EVA mensurada na flexão e extensão passiva (inferior). Pós 0 h é a medida imediatamente após o exercício ser finalizado. * indica diferença comparada a pré e pós 0 h ($P < 0,05$, Anova). ** Indica diferença comparada a pré e pós 0h, e pós 48h na condição basal antes da suplementação ou placebo ($P < 0,05$, Anova).

Figura 3. Marcadores de dano muscular, estresse oxidativo e status antioxidante. * indica diferença em relação a pré e pós 0h ($P < 0,05$, Anova). # Indica diferença entre os grupos ($P < 0,05$; Anova, teste t independente).

Figura 4. Detalhamento dos resultados de marcadores de dano muscular, estresse oxidativo e status antioxidante nos grupos placebo e controle. A figura apresenta as respostas individuais para o momento pós 48h do exercício, em cada um dos grupos.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	12
PARTE I	13
1. NATUREZA DO PROBLEMA	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1. AÇÃO MUSCULAR EXCÊNTRICA E DANO MUSCULAR ESTRUTURAL	16
2.2. DOR MUSCULAR DE INÍCIO TARDIO E DANO METABÓLICO	18
2.3. SUPLEMENTAÇÃO ANTIOXIDANTE COMO ESTRATÉGIA PARA MINIMIZAR DMIT	21
3. DELIMITAÇÃO DO TEMA	23
4. OBJETIVOS	26
4.1. OBJETIVO GERAL.....	26
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
PARTE II	27
5. ARTIGO ORIGINAL: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE A DOR MUSCULAR TARDIA E MARCADORES DE DANO MUSCULAR	27
5.1. RESUMO	28
5.2. INTRODUÇÃO	29
5.3. MATERIAIS E MÉTODOS	30
5.4. RESULTADOS	34
5.5. DISCUSSÃO.....	38
5.6. CONCLUSÃO	42
5.7. REFERÊNCIAS	42
PARTE III	46
6. COMENTÁRIOS COMPLEMENTARES A DISCUSSÃO	46

7. CONCLUSÕES	50
7.1. PERSPECTIVAS	50
8. REFERÊNCIAS.....	52
ANEXOS	59
ANEXO I – NORMAS DO JOURNAL OF SCIENCE AND MEDICINE IN SPORT	60
ANEXO II – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA.....	72

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação é organizada em três partes.

A parte I descreve a fundamentação teórica e delimitação do tema deste trabalho, bem como apresenta os nossos objetivos.

A parte II é composta por um artigo original, a ser submetido para publicação em um periódico de circulação internacional. Nesta parte estão descritos os principais resultados do estudo. O texto é apresentado em Português e será submetido no idioma Inglês. Ressaltamos que optamos por manter a formatação das referências do artigo no mesmo formato das demais partes da dissertação, com o objetivo de facilitar a identificação das citações, sendo que no momento da tradução do texto e submissão, o gerenciador de referências será empregado para a formatação de acordo com as normas do periódico.

A parte III é composta por uma discussão geral dos nossos resultados evidenciando também algumas perspectivas futuras e potenciais aplicações dos nossos resultados.

Ao final, encontram-se as referências citadas nas partes I e III da dissertação, pois as referências da parte II já estão inclusas no final do próprio capítulo pois são as que compõe o artigo original.

Como anexo encontram-se demais documentos pertinentes, incluindo as normas do periódico elegido para a submissão do artigo e a carta de aprovação do comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Universidade Federal do Pampa.

PARTE I

1. NATUREZA DO PROBLEMA

O exercício físico é um componente fundamental para a saúde e qualidade de vida. A prática regular de exercícios físicos é recomendada quase que de maneira irrestrita. Embora no Brasil os níveis de sedentarismo ainda sejam altos, boa parte da população desenvolve atividades esportivas regulares como forma de manter a saúde.

No dia a dia observa-se que tem crescido o número de grupos de corrida, de ciclismo, entre outros esportes coletivos, assim como eventos competitivos amadores que buscam incentivar a prática de exercícios físicos. Em pessoas que praticam exercícios físicos de forma esporádica, ou seja, não desenvolvem um treinamento sistematizado, podem apresentar dores musculares transientes e decorrentes do esforço físico intenso, o que pode desmotivar a manutenção da atividade física. Essa dor é chamada de dor muscular de início tardio (DMIT).

A DMIT não afeta apenas pessoas que treinam de maneira irregular. A DMIT também pode ser experimentada por pessoas treinadas, quando uma sobrecarga de treinamento é aumentada de maneira abrupta, ou exercícios diferentes do habitual são realizados. Contudo, as adaptações neuromusculares ao treinamento ajudam a minimizar a percepção de dor muscular tardia, motivo pelo qual a DMIT é sempre temida por pessoas que começam a realizar exercício físico. Em casos extremos, a DMIT acaba por afastar as pessoas do exercício.

Durante o exercício o sistema neuromuscular pode ser ativado de diferentes maneiras, motivo pelo qual existem configurações de exercício que favorecem a ocorrência da DMIT. As ações musculares excêntricas, que envolvem a produção de força do músculo enquanto ele é alongado (Enoka 2000), promovem maiores

benefícios em termos de ganhos na produção força, mas também são reconhecidas por gerar maior dano muscular e DMIT (Cheung, Hume et al. 2003). Contudo, ações musculares excêntricas fazem parte do dia a dia e diversos exercícios físicos.

Por isso, há interesse em buscar estratégias que minimizem esse desconforto, contribuindo para maior prazer na atividade física, menor abandono, e manutenção da frequência da atividade. Uma estratégia cada vez mais popular, mas ainda com poucas evidências científicas, é a suplementação com antioxidantes na dieta (Kim and Lee 2014). Esse tipo de intervenção busca minimizar o dano e a dor muscular com base na manutenção de um equilíbrio oxidativo e aumento de defesas antioxidantes, sendo uma condição de estresse oxidativo um fator considerado precursor do dano muscular e da DMIT (Halliwell 2006).

Existem diversas fontes de antioxidantes que podem ser adicionados na dieta. O chá verde tem sido muito investigado quanto ao seu potencial neuroprotetor em modelos de envelhecimento e insultos cerebrais (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). Nestes estudos, seu potencial antioxidante tem sido um dos principais responsáveis pela diminuição de condições de estresse oxidativo, melhora das defesas antioxidantes, e atividade antiinflamatória, exercendo assim influência também sobre desempenhos comportamentais. Com base nesses estudos, o chá verde poderia ser considerado um potente nutriente para proteger o sistema muscular de danos resultantes do exercício (Crespy and Williamson 2004; Chacko, Thambi et al. 2010; Jowko 2015; Jowko, Dlugolecka et al. 2015; Kuo, Lin et al. 2015). Contudo, esse é um tema que ainda gera muitas dúvidas na literatura, sendo este o fator que motivou o desenvolvimento deste estudo.

A seguir apresentamos o embasamento teórico para a investigação que desenvolvemos, em que investigamos o papel da suplementação antioxidante com

extrato de chá verde sobre o dano muscular e a dor muscular tardia resultante de exercício intenso para indução de dor muscular tardia.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Ação muscular excêntrica e dano muscular estrutural

Considerando que as ações musculares excêntricas possuem um papel importante na ocorrência da dor muscular de início tardio (DMIT) porque causam danos estruturais importantes, é fundamental revisarmos o processo de contração e os mecanismos mais conhecidos para explicar como o dano muscular estrutural ocorre.

Os sarcômeros desempenham a função de unidade básica da fibra muscular, e suas estruturas permitem a conexão entre os filamentos de actina e miosina para a contração muscular, gerando força, somada à atuação dos componentes passivos (Enoka 2000).

Quando o estímulo para produção de força ocorre, o neurotransmissor acetilcolina (ACh) é liberado em resposta ao potencial de ação axonal, e se ligará a receptor nicotínico pós-sináptico resultando na abertura de canais específicos, ocasionando o influxo na fibra muscular de Na^+ . Esta movimentação resulta em um potencial sináptico no sarcolema. Este potencial se propaga pela membrana até chegar aos túbulos T, ocasionando a liberação de íons Ca^{+2} do retículo sarcoplasmático liso para o citoplasma. Desta forma, o Ca^{+2} inibirá a ação reguladora das proteínas troponina e tropomiosina, ocorrendo a liberação dos sítios da actina para a ligação pela miosina, no processo denominado ciclo das pontes cruzadas (Enoka 2000).

No ciclo das pontes cruzadas, a cabeça da miosina se liga a sítios específicos da actina, e durante este processo ocorrerá a hidrólise da molécula de adenosina trifosfato (ATP) ligada à cabeça da miosina. Como consequência, há liberação de energia para que a ponte cruzada aconteça, promovendo o deslizamento dos

filamentos de actina em direção ao centro do sarcômero (Enoka 2000; Herzog, Powers et al. 2015). O resultado é o encurtamento do sarcômero e o somatório de vários sarcômeros encurtando resulta em abalo e contração muscular.

Esse processo de contração muscular pode ocorrer na forma de três ações musculares, compreendidas como ações musculares isométricas, concêntricas e excêntricas (Greenhaff, Maughan et al. 2000). Em uma ação muscular isométrica o torque muscular gerado com a contração é igual ao torque da resistência externa, e a contração muscular não gera movimento articular. Por sua vez, se o torque produzido pelo músculo for maior do que o torque de resistência, o encurtamento muscular gera movimento vencendo a carga externa, o que define uma ação muscular concêntrica (Enoka 2000). Na ação excêntrica, por sua vez, o músculo gera um torque que não é capaz de vencer o torque de resistência externa, e com isso, produz força enquanto é alongado (Enoka 2000). Esse tipo de ação também está presente em vários movimentos que envolvem absorção de impacto, como ocorre com o quadríceps na aterrissagem de saltos verticais e na fase inicial de contato do pé com o solo na corrida. Dentre os três tipos de ações musculares, é a ação excêntrica que causa maior dano e modificação na estrutura muscular (Isner-Horobeti, Dufour et al. 2013). Além disso, durante a ação excêntrica o músculo recruta uma menor quantidade de unidades motoras (Douglas, Pearson et al. 2017), e em decorrência disto, uma menor área de secção transversa absorve o estresse mecânico (Brown, Child et al. 1997).

A ação excêntrica é a que gera maior magnitude de força (Proske and Morgan 2001), e isso ocorre porque nesse tipo de ação há a contribuição dos componentes passivos musculares, que ao contribuir para maior produção de força também fazem com que o músculo seja exercitado com maior intensidade (LaStayo, Woolf et al. 2003). Grande parte do alongamento durante a ação excêntrica é realizado por sarcômeros com estruturas mais fracas (Morgan 1990) que se alongam de forma descontrolada até o momento em que rompem e sobrecarregam outras estruturas

passivas, momento em que também ocorre dano ao sistema excitação-contração e túbulos T (Talbot and Morgan 1996; Proske and Morgan 2001) bem como na banda Z (Waterman-Storer 1991; Friden and Lieber 1992).

Quando o exercício envolvendo ações excêntricas é realizado de uma forma graduada, ou seja, inicialmente expondo o músculo a uma carga moderada que ao longo do tempo é aumentada, este dano pode ser menor (Hessel, Lindstedt et al. 2017). Porém, isso não ocorre quando o estímulo tem alta intensidade ou envolve exercícios diferentes do habitualmente realizados (Cleak and Eston 1992). Por isso, ações excêntricas são frequentemente utilizadas para protocolos de indução ao dano muscular (Isner-Horobeti, Dufour et al. 2013).

2.2. Dor muscular de início tardio e dano metabólico

A dor muscular de início tardio (DMIT) se manifesta após um exercício extenuante, intenso, ou diferente do que a pessoa está habituada a realizar. Sua etiologia é multifatorial, mas alguns dos seus mecanismos são bastante conhecidos. Primeiro há a presença de um dano em resposta ao estresse mecânico, e logo em seguida ocorre um dano de origem metabólica (Pereira Panza, Diefenthaler et al. 2015). Além da própria sensação de dor, sintomas como déficits de força, inchaço, rigidez da musculatura e sensibilidade do tecido são comuns em um quadro de DMIT (McHugh, Connolly et al. 1999). Essa sensação ocorre em maior magnitude dentro do período 24 a 48 h após o esforço e desaparece, geralmente, em até 96 horas (Connolly, Sayers et al. 2003).

Dentre os mecanismos de origem DMIT, há um rompimento da arquitetura organizacional dos elementos contráteis, marcado pela liberação de enzimas para o meio extracelular, como creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH), e

mioglobinas (Stebbins, Moore et al. 2014). Essas enzimas aparecerão aumentadas no sangue, sugerindo a presença de fibras musculares danificadas (He, Hockemeyer et al. 2015; Narkhede, Jagtap et al. 2016). Especialmente a CK tem ganho popularidade no meio esportivo, onde seu uso é bastante comum como forma de monitorar dano muscular e um eventual risco de lesão. A CK é uma proteína que possui a função de catalisar as trocas de ligações de fosfato de alta energia entre fosfocreatina e adenosina difosfato (ADP). No citoplasma, podem ser encontradas ao menos três isoenzimas (CK-MM, CK-BB, CK-MB) cada uma oferecendo informações específicas sobre determinados tecidos (Brancaccio, Lippi et al. 2010). A CK-MM é encontrada no músculo esquelético e sua alteração sugere fibras musculares danificadas. A CK-MB é encontrada no músculo cardíaco, e a CK-BB em decorrência de dano no cérebro (Nigro, Comi et al. 1983; Pfeiffer, Homburger et al. 1983; Borrayo-Sanchez, Sosa-Jarero et al. 2006).

A LDH é uma enzima descrita por possuir cinco formas, LDH 1, LDH 2, LDH 3, LDH 4 E LDH 5, formadas pela combinação do polímero M e polímero H, que desempenham diferentes funções. O polímero M desempenha atividade de catalisar a conversão de piruvato em lactato; o monômero H contribui de forma positiva no aumento da oxidação aeróbia do piruvato (Brancaccio, Lippi et al. 2010).

Considerando que o dano muscular associado com a DMIT envolve um processo de regeneração, a DMIT também está associada com um processo de regeneração do tecido muscular com resposta inflamatória objetivando a remoção de detritos (Clarkson and Hubal 2002) e elementos como neutrófilos, monócitos e macrófagos M1, que atuam na remoção e degradação do tecido acometido pelo processo danoso. Essa resposta ao dano libera proteases, citocinas inflamatórias e espécies reativas de oxigênio (EROs) (Peake, Nosaka et al. 2005; Butterfield, Best et al. 2006; Tidball and Villalta 2010; Paulsen, Mikkelsen et al. 2012). EROs são moléculas caracterizadas por possuírem um ou mais elétrons não pareados (Halliwell and Gutteridge 1984). Se

houver um desequilíbrio, ou seja, a presença de EROs for muito maior do que os antioxidantes disponíveis, pode ocasionar uma situação denominada estresse oxidativo (Halliwell 2006). O estresse oxidativo pode danificar estruturas celulares, como os lipídios da parede celular, dando origem a reação da peroxidação lipídica e gerando um ciclo de novas EROs em sequência, que podem danificar outras estruturas celulares, até mesmo os tecidos e assim retroalimentando a inflamação (Urso and Clarkson 2003). Dessa forma, monitorar parâmetros que permitam estimar o estresse oxidativo e o status de defesas antioxidantes é importante para monitorar o dano muscular, em adição a atividade de CK e LDH.

Esse dano metabólico também tem um papel importante na percepção de dor muscular tardia. Durante a instauração do processo inflamatório os macrófagos M1 são substituídos por macrófagos M2, que contribuirão para a regeneração e crescimento do tecido, liberando citocinas anti-inflamatórias (Butterfield, Best et al. 2006; Tidball and Villalta 2010). A liberação do Ca^{+2} após o dano na estrutura celular propicia a ativação de enzimas como fosfolipase A2. Isto contribui para o ácido araquidônico estar livre na membrana celular e dar origem a importantes mediadores inflamatórios. Uma vez que o metabolismo do ácido araquidônico aumente a atividades da ciclo-oxigenase (COX), propiciará a produção da prostaglandina E2, aumentando a sensibilidade de fibras nervosas tipo III e IV. Estas fibras atuam na percepção da dor, uma vez que a prostaglandina E2 aumenta a percepção de dor na musculatura e permeabilidade vascular (Vane and Botting 1987; Connolly, Sayers et al. 2003).

Durante um quadro de DMIT diversos sintomas podem ser experimentados, como déficits de força, inchaço da musculatura exercitada, além de aumentada rigidez muscular e sensibilidade do tecido (McHugh, Connolly et al. 1999). Com isso, déficits de força muscular são um dos sintomas mais visíveis após a instauração de um dano ocasionado por ações excêntricas (Eston, Mickleborough et al. 1995)

2.3. Suplementação antioxidante como estratégia para minimizar DMIT.

Uma vez que o estresse oxidativo esta envolvido no mecanismo de ocorrência da DMIT, estratégias antioxidantes têm sido utilizadas para minimizar os sintomas indesejados que possam interferir no dia a dia e na prática continuada do exercício físico. Grande parte das suplementações buscam efeitos positivos aumentando a capacidade antioxidante e diminuindo a resposta inflamatória acentuada em um quadro de DMIT (Kim and Lee 2014).

Alguns estudos têm evidenciado a suplementação com cafeína, taurina, ômega 3, vitamina C, chá preto, extrato de gengibre, entre outros nutrientes (Arent, Senso et al. 2010; Kim and Lee 2014; M.R. Moradporian 2014; Rynders, Weltman et al. 2014). No entanto, a suplementação com produtos naturais tem sido muito evidenciada nos últimos anos. Dentre eles, um com bastante popularidade é o chá verde. O chá verde é uma substância com alta capacidade antioxidante e seus efeitos têm sido mensurados em diferentes situações (Crespy and Williamson 2004; Chacko, Thambi et al. 2010; Jowko, Sacharuk et al. 2012; Flores, Martins et al. 2014; Schimidt, Vieira et al. 2014; Jowko 2015; Jowko, Dlugolecka et al. 2015; Kuo, Lin et al. 2015; Altermann, Souza et al. 2017; Schimidt, Garcia et al. 2017). Com base nestes fatores, a sua utilização para atenuar os sintomas de um quadro de DMIT pode ser positiva, uma vez que seus compostos químicos possam agir exatamente sobre o processo inflamatório e dano oxidativo instaurado pelo exercício físico intenso.

Mas o interesse no chá verde tem outros fatores motivadores. O chá verde, derivado da planta *Camellia Sinensis*, é uma das bebidas mais consumidas no mundo (Chacko, Thambi et al. 2010) e este grande consumo se deve aos inúmeros benefícios que seus componentes propiciam. Esses benefícios são atribuídos à presença de polifenóis, que são compostos químicos orgânicos encontrados em abundância em

plantas e caracterizam-se por possuírem em suas estruturas múltiplas unidades de fenol (Malaguti, Angeloni et al. 2013). A maioria dos polifenóis encontrados são catequinas. No chá verde, a epigalocatequina-3-galato (EGCG) é a principal catequina; entretanto, existem outras em menor quantidade, como a epicatequina (EC), epigalocatequina (EGC), epicatequina galato (ECG) (Jowko 2015).

Essas catequinas atuam como sequestradoras de radicais livres, protegendo a célula contra possíveis danos ocasionados por uma situação de estresse oxidativo (Chacko, Thambi et al. 2010). Alguns estudos presentes na literatura trazem evidências dos benefícios das catequinas do chá verde, como sua capacidade antitumorigênica (Roomi, Ivanov et al. 2005), prevenção de doenças como câncer de mama (Crespy and Williamson 2004) e diabetes (Waltner-Law, Wang et al. 2002). Esse potencial pode sugerir que as catequinas apresentem efeito no músculo esquelético durante o exercício. Em comparação com outras substâncias, como vitaminas C e E consumidas no meio esportivo, podemos observar que o chá verde se demonstrou efetivo em comparação com estas substâncias para melhorar a percepção de DMIT e estresse oxidativo ocasionado pelo exercício (Moradporian, Ashkavand et al. 2014). No entanto, existem vários aspectos que carecem de elucidação, já que há bastante divergência entre os efeitos da suplementação com chá verde sobre o desempenho muscular (Jowko 2015).

3. DELIMITAÇÃO DO TEMA

A DMIT caracteriza-se por uma sensação de desconforto que acompanha atletas profissionais ou amadores, praticantes de atividades de alta intensidade, ou iniciantes em exercícios regulares (Cheung, Hume et al. 2003). Sendo a DMIT um fator de limitação para a prática, além de aumentar o risco de lesões, seu tratamento e prevenção tem importante papel no treinamento esportivo (Mizumura and Taguchi 2016).

Dessa forma, é essencial para a manutenção da integridade física e desempenho, compreender o estresse gerado na musculatura trabalhada após o exercício e aprimorar estratégias de combatê-lo (Haramizu, Ota et al. 2013). Neste contexto, estudos com a utilização de intervenção nutricional ganham crescente destaque. Aqui destacamos o chá verde como uma potencial estratégia, com baixo custo e fácil acesso.

O extrato do chá verde tem apresentado efeitos positivos em diferentes contextos e estudos de intervenção. Evidências de efeitos positivos atribuídos aos seus constituintes químicos têm sido observadas em estudos sobre neuroproteção (Schmidt, Garcia et al. 2017) e minimização ou reversão de déficits cognitivos (Altermann, Souza et al. 2017). Devido a suas características químicas antiinflamatórias e antioxidantes, sua utilização tem ganho crescente destaque e evidência em estudos com humanos, e o interesse pelos seus efeitos na musculatura esquelética durante o exercício físico tem sido amplamente debatido (Crespy and Williamson 2004; Eichenberger, Mettler et al. 2010; Jowko, Sacharuk et al. 2012; M.R. Moradporian 2014; Jowko 2015; Jowko, Dlugolecka et al. 2015; Kuo, Lin et al. 2015).

Evidências de efeitos positivos sobre a capacidade antioxidante total do plasma foram reportadas tanto em indivíduos sedentários (Kuo, Lin et al. 2015) quanto em atletas (Jowko, Dlugolecka et al. 2015). Também, efeitos positivos sobre a percepção

de DMIT durante o pico de dor 48 h após o exercício físico (Herrlinger, Chirouzes et al. 2015) e sobre a CK (Kuo, Lin et al. 2015). Entretanto, estes resultados não foram confirmados em outros estudos (Eichenberger, Mettler et al. 2010; Jowko, Sacharuk et al. 2012). A divergência entre os estudos parece depender em fatores como o tipo de exercício realizado e nível de treinamento dos participantes, ao passo que o papel da dose empregada não é claro quanto a observação de benefícios da suplementação.

Nos diferentes estudos é consenso que qualquer potencial do chá verde para beneficiar quadros de DMIT passa pelo fato das suas catequinas serem antioxidantes que atuam como protetores da célula contra danos causados por EROs, intensificando atividades de enzimas que influenciam na proteção da célula, como superóxido dismutase (SOD) e catalase (Chacko, Thambi et al. 2010). Sobre a dose definida para a suplementação, a administração de 250 mg/dia durante 4 semanas foi previamente descrita como eficiente para a DMIT (Kuo, Lin et al. 2015), e doses maiores em períodos de suplementação menores, por exemplo, 1.500 mg/dia durante 5 dias (Romain, Freitas et al. 2017) e 1.760 mg/dia ao longo de 9 dias (Arent, Senso et al. 2010) resultaram em menor percepção de DMIT, ao mesmo tempo que doses ainda maiores e por mais tempo (6.450 mg/dia ao longo de 14 dias) não tiveram efeito na DMIT (Rynders, Weltman et al. 2014).

Dessa forma, considerando a DMIT o dano estrutural e oxidativo no músculo gerados pelo exercício físico e que o extrato do chá verde possui alta capacidade antiinflamatória e antioxidante, poderia o chá verde atenuar a sensação de DMIT e aspectos correlacionados a sua etiologia em indivíduos fisicamente ativos? Poderia esse efeito positivo hipotético ser potencializado com uma dose administrada por um curto período de tempo?

Para responder essas perguntas, aqui propomos investigar se uma suplementação com extrato de chá verde poderia minimizar a DMIT e alterações bioquímicas resultantes do dano muscular ocasionado por uma sessão de exercícios,

o que poderia ter aplicações práticas relevantes para sujeitos que estão começando uma rotina de exercícios. Uma vez que o período de recuperação demonstra-se essencial para a manutenção da integridade física, por isso propusemos aqui investigar os efeitos da suplementação com extrato de chá verde após o exercício extenuante na DMIT. Para testar essa hipótese, optamos por administrar uma dose que mimetiza um protocolo de suplementação prévio que resultou em benefícios (Kuo, Lin et al. 2015), mas considerando uma maior dose de extrato de chá verde para reduzir o tempo de suplementação pela metade.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Determinar o efeito da suplementação com extrato de chá verde sobre a dor muscular de início tardio, dano muscular, estresse oxidativo e status antioxidante resultante do exercício físico.

4.2. Objetivos específicos

- Determinar se a suplementação com extrato de chá verde diminui a dor muscular de início tardio.
- Determinar se a suplementação com extrato de chá verde reduz a atividade de marcadores bioquímicos relacionados ao dano muscular estrutural.
- Determinar o efeito da suplementação com extrato de chá verde sobre o estresse oxidativo.
- Determinar o efeito da suplementação com extrato de chá verde sobre o status antioxidante.

PARTE II

5. ARTIGO ORIGINAL: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE CHÁ VERDE SOBRE A DOR MUSCULAR TARDIA E MARCADORES DE DANO MUSCULAR

Willian da Silva¹, Álvaro S. Machado¹, Mauren A. de Souza², Pâmela B. Mello-Carpes², Felipe P Carpes^{1*}.

¹ Grupo de Pesquisa em Neuromecânica Aplicada, Laboratório de Neuromecânica, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiiana, RS, Brazil

² Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Laboratório de Neuroquímica, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiiana, RS, Brazil

* Autor correspondente

BR 472 km 592 – Cx postal 118 - CEP 97500-970, Uruguaiiana, RS, Brasil

Telefone: +55 55 3911 0225

e-mail: carpes@unipampa.edu.br

Agradecimentos

Esta pesquisa recebeu fomento da CAPES na forma de bolsa de mestrado e bolsa de pós-doutorado, e recursos da CAPES e CNPq para financiamento dos experimentos. FPC é financiado pelo CNPq e PBMC é financiada pelo Programa Mulheres na Ciência L'oréal UNESCO. Os autores declaram não ter conflito de interesse em respeito ao conteúdo deste artigo.

5.1. Resumo

Objetivo: O potencial antioxidante e antiinflamatório do extrato de chá verde pode contribuir para a recuperação pós exercício, onde uma condição de estresse oxidativo e inflamação são associados com dor muscular tardia. Neste estudo determinamos os efeitos da suplementação com extrato de chá verde sobre a dor muscular de início tardio (DMIT), dano muscular, estresse oxidativo e status antioxidante.

Design: Ensaio randomizado, triplo cego, placebo controle.

Métodos: Vinte homens não treinados, com 24 (± 5) anos de idade realizaram sessões de exercício para indução da DMIT no tríceps sural, antes e depois de 15 dias de suplementação com extrato de chá verde (GT, n=10) ou placebo (PL, n=10). A DMIT foi determinada por escala visual analógica de dor. Amostras sanguíneas foram tomadas para determinar marcadores de dano muscular, estresse oxidativo, e status antioxidante.

Resultados: O exercício induziu DMIT. A suplementação com GT reduziu marcador de dano estrutural mas não atenuou a DMIT e marcadores de estresse oxidativo e status antioxidante.

Conclusão: A suplementação com GT não foi capaz de diminuir a sensação de DMIT, embora tenha oferecido um efeito protetivo ao dano muscular estrutural.

Palavras chaves: Estresse oxidativo; Exercício excêntrico; Antioxidantes.

5.2. Introdução

A dor muscular de início tardio (DMIT) caracteriza-se por uma sensação de desconforto após esforços físicos de alta intensidade e/ou com predomínio de ações excêntricas. A DMIT acarreta perda de força muscular, diminuição da sensibilidade, e aumento da rigidez muscular e inchaço, limitando a prática de exercícios físicos e aumentando o risco de lesões de 24 a 96 h após o exercício (McHugh, Connolly et al. 1999). A DMIT tem origem multifatorial e está associada a eventos fisiológicos e bioquímicos, como o dano mecânico estrutural no músculo e um dano de origem metabólica. O estímulo mecânico do exercício desencadeia um processo inflamatório em que são formadas espécies reativas de oxigênio (ERO) que por sua vez, potencializam os danos a diversas estruturas pelo desequilíbrio entre a produção de ERO e o status antioxidante (Halliwell 2006).

Dentre estratégias para minimizar a DMIT, intervenções nutricionais como a suplementação com antioxidantes se destacam (Kim and Lee 2014). O extrato de chá verde (GT), proveniente da planta *Camellia sinensis*, é rico em polifenóis com potente ação antioxidante, como a epigallocatequina-3-galato (EGCG), epicatequina (EC), epigallocatequina (EGC), e epicatequina galato (ECG) (Jowko 2015). Em modelos animais, o potencial antioxidante da suplementação com chá verde foi evidenciado para insultos que envolvam dano oxidativo e inflamação em outros sistemas (Schmidt, Garcia et al. 2017).

No contexto do treinamento físico, o chá verde é usado como estratégia de recuperação em atletas, ainda que as evidências sejam escassas e variáveis pelo tempo de suplementação, dose e nível de treinamento dos participantes (Jowko, Dlugolecka et al. 2015). A suplementação com extrato de chá verde diminuiu a sensação de DMIT durante o pico de dor 48 h após exercício com predomínio de ações excêntricas (Herrlinger, Chirouzes et al. 2015). Além disso, diminuiu a atividade

de marcadores de dano muscular após exercício aeróbico intenso (Kuo, Lin et al. 2015) e de força (Herrlinger, Chirouzes et al. 2015). Entretanto, estes resultados não foram confirmados em atividades de endurance (Eichenberger, Mettler et al. 2010, Jowko, Sacharuk et al. 2012). A dosagem de suplementação varia entre os estudos, e uma maior ou menor dose não foi associada com o fato da suplementação ter ou não efeito. Em relação aos participantes, a maioria dos estudos considerou indivíduos treinados ou em treinamento, restando dúvidas sobre como se dão as respostas em indivíduos sem treinamento específico, já que em muitos casos são esses indivíduos que mais sofrem com a DMIT.

Sendo a DMIT originada pelo dano estrutural e oxidativo na musculatura exercitada e tendo o extrato do chá verde alta capacidade anti-inflamatória e antioxidante, poderia a suplementação com extrato de chá verde atenuar a sensação de DMIT e aspectos relacionados a sua etiologia, i.e., dano muscular e oxidativo, em indivíduos fisicamente ativos? Neste estudo determinamos o efeito da suplementação com extrato de chá verde sobre a DMIT e marcadores de dano muscular.

5.3. Materiais e métodos

Participantes e desenho experimental

Este estudo teve desenho randomizado, triplo-cego, com placebo controlado e foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da instituição local e desenvolvido de acordo com a declaração de Helsinki. Participaram homens saudáveis, sem histórico de lesão, e que não realizavam exercícios regulares. Os participantes foram randomizados em grupo intervenção [n=10, idade de 25 (\pm 5) anos, massa corporal de 76 (\pm 9) kg, estatura 173 (\pm 6) cm] e um grupo controle [n=10, idade de 23 (\pm 5) anos, massa corporal de 75 (\pm 8) kg, estatura 175 (\pm 6) cm]. Todos realizaram um protocolo

de exercício de elevação do calcanhar para indução de DMIT no grupo muscular do tríceps sural, antes e depois da suplementação. Antes, imediatamente após e 48 h após as sessões de exercício a dor muscular foi avaliada e amostras de sangue foram coletadas. No primeiro dia de experimentos, cada participante recebia um número de identificação, assim como um frasco com cápsulas, sem identificação quanto ao conteúdo. A identificação quanto ao conteúdo das cápsulas e grupos foram resguardadas por uma pessoa externa ao grupo de pesquisa de modo que participantes, pesquisadores e membros do laboratório, e técnicos laboratoriais responsáveis pelas técnicas bioquímicas não tinham informação de qual participante pertencia a cada grupo e que resultado pertencia a cada participante ou grupo. O grupo intervenção recebeu a suplementação com extrato de chá verde e o grupo placebo recebeu cápsulas com celulomax E, um excipiente não ativo caracterizado como pó branco e fino, não fibroso e inodoro.

A suplementação foi prescrita para um período de 15 dias com dose de 500 mg/dia de extrato de chá verde ou placebo. Considerando que uma dose de 250 mg/dia durante 4 semanas foi previamente descrita como eficiente para a DMIT (Kuo, Lin et al. 2015), optamos por dobrar a dose oferecida e reduzir pela metade o tempo de suplementação, tornando a intervenção mais curta. A figura 1 ilustra o desenho experimental do estudo.

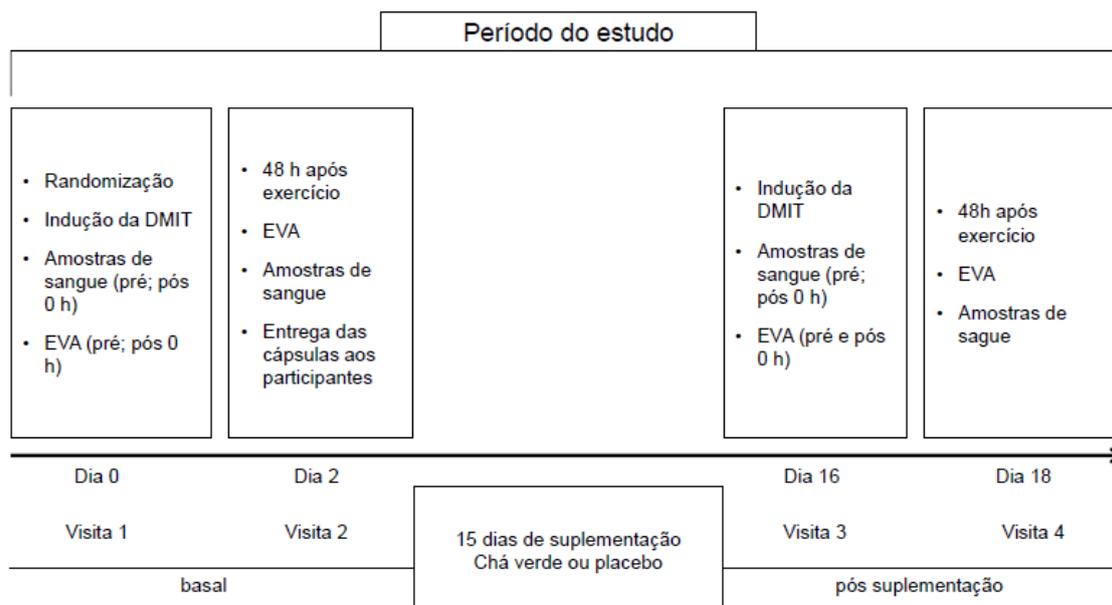


Figura 1: Desenho experimental. TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido; DMIT: dor muscular de início tardio; EVA: escala visual analógica.

Característica da suplementação

O extrato de chá verde utilizado foi adquirido de fornecedores do comércio farmacêutico local e testado por meio da cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), o que assegurou a presença de epigallocatequina (EGC) (concentração de 16,01 mg/g), epicatequina (EC) (concentração de 1,59 mg/g), epigallocatequina galato (EGCG) (concentração de 17,80 mg/g), e epicatequina galato (ECG) (concentração de 1,60 mg/g).

Protocolo de dor muscular de início tardio

Para a indução da DMIT foi utilizado um protocolo de exercício de elevação do calcanhar para indução de DMIT no tríceps sural, descrito em estudo anterior (Kanda, Sugama et al. 2014).

Avaliação da dor muscular de início tardio

A dor muscular foi avaliada antes, imediatamente após e 48 h após cada sessão de exercício utilizando uma escala visual analógica (EVA) com 10 pontos (zero para nenhuma dor, dez para dor excessiva). Inicialmente, o participante ficava sentado em um banco com os joelhos flexionados a 90° graus e pés sem tocar o solo. Ele era questionado sobre a magnitude da sensação de dor que estava sentindo na musculatura posterior da perna. A seguir, o participante respondia novamente a EVA enquanto um pesquisador realizava a palpação da região exercitada. Por fim, a EVA foi empregada para avaliar a dor durante a flexão e extensão passiva do tornozelo (Corder, Newsham et al. 2016). Todas as avaliações de dor foram realizadas por um mesmo avaliador.

Avaliação do dano muscular, oxidativo e status antioxidante

Amostras de 10 ml de sangue foram coletadas da veia cubital anterior antes, imediatamente, e 48 h após as sessões de exercício. As amostras foram centrifugadas (10 min, 3500 rpm) para separação do plasma, que foi armazenado a uma temperatura de -80°C até o momento das análises para determinar:

- Atividade plasmática de creatina quinase (CK) total no soro por um método enzimático usando kits comerciais.
- Atividade plasmática de lactato desidrogenase (LDH) mensurada no soro por um método colorimétrico usando kits comerciais.
- Atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) avaliada pelo método colorimétrico modificado (Ellman, Courtney et al. 1961).
- Detecção da produção de ERO por análise de fluorescência (Loetchutinat, Kothan et al. 2005).

- Peroxidação lipídica determinada pela análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Ohkawa, Ohishi et al. 1979).
- Atividade da glutathiona (GSH) utilizando ensaio fluorimétrico (Hissin and Hilf 1976).
- Capacidade antioxidante total do sangue (FRAP) medida no soro com ensaio colorimétrico (Benzie and Strain 1996).
- Carbonilação de proteínas (CARBONIL) pelo método descrito por Levine (Levine, Garland et al. 1990).

Análises estatísticas

Os dados são apresentados considerando a média e o erro padrão. A normalidade da distribuição dos dados foi verificada com o teste de Shapiro-Wilk. Efeitos e interações da intervenção e do tempo foram analisados com análise de variância de dois fatores, considerando os fatores grupo (suplementação e placebo) nos diferentes momentos (pré, imediatamente e 48 h após exercício). O teste post hoc de Tukey foi empregado quando pertinente para comparações entre os momentos e teste t independente para comparação dos grupos. O nível de significância para todas as análises foi de 0,05.

5.4. Resultados

O número máximo de repetições de elevação do calcanhar não diferiu entre as diferentes sessões de exercício e nem entre os grupos. O número de repetições para a fadiga também não diferiu entre os grupos ou sessões (dados não apresentados). O exercício resultou em dor muscular tardia, que teve seu pico 48 h após o exercício (Figura 2). A magnitude de dor muscular tardia reportada pelos participantes não

sofreu efeito da suplementação. Em ambos os grupos, na segunda sessão de exercício a percepção de dor foi menor.

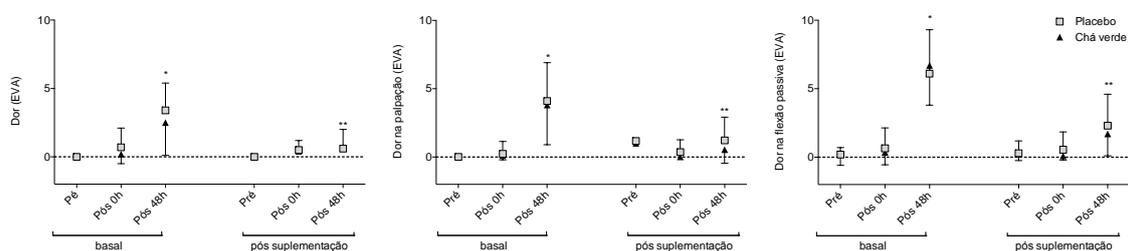


Figura 2. Dor muscular de início tardio determinada pela EVA livre (superior), EVA mensurada na palpação (centro) EVA mensurada na flexão e extensão passiva (inferior). Pós 0 h é a medida imediatamente após o exercício ser finalizado. * indica diferença comparada a pré e pós 0 h ($P < 0,05$, Anova). ** Indica diferença comparada a pré e pós 0h, e pós 48h na condição basal antes da suplementação ou placebo ($P < 0,05$, Anova).

Os resultados dos parâmetros bioquímicos são apresentados na figura 3. Na condição basal, o protocolo de DMIT levou ao aumento da atividade da creatina quinase (CK) 48 h após o exercício em ambos os grupos (placebo: $F = 9,80$; $P = 0,006$; chá verde: $F = 7,80$; $P = 0,017$). Nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos na condição basal em pré ($P = 0,838$), pós 0 h ($P = 0,386$) e pós 48 h ($P = 0,613$). Após o período de suplementação a atividade da CK não diferiu entre as medidas em pré, pós 0 h e pós 48 h nos grupos (placebo: $F = 1,40$; $P = 0,601$; chá verde: $F = 0,20$; $P = 0,973$). Entretanto, o grupo suplementado com chá verde apresentou menor CK em todas as medidas no período pós-suplementação, em pré ($P = 0,021$), pós 0 h ($P = 0,013$) e pós 48 h ($P = 0,037$). O protocolo de exercício não alterou a atividade da lactato desidrogenase (LDH) pré, pós 0 h e pós 48 h nos grupos (placebo: $F = 1,40$; $P = 0,601$; chá verde: $F = 1,40$; $P = 0,601$) na condição basal, onde também não foram encontradas diferenças entre os grupos em pré ($P = 0,669$), pós 0 h ($P = 0,625$) e pós 48 h ($P = 0,254$). Após o período de suplementação os resultados

se mantiveram. A atividade da LDH não diferiu entre as medidas antes e após o exercício no grupo placebo ($F = 1,80$; $P = 0,436$) e chá verde ($F = 1,40$; $P = 0,601$) e nenhuma diferença entre os grupos foi encontrada em pré ($P = 0,423$), pós 0 h ($P = 0,793$) e pós 48 h ($P = 0,868$).

A atividade da acetilcolinesterase (AChE) na condição basal foi maior pós 48 h em comparação com os demais períodos no grupo placebo ($F = 3,57$; $P = 0,049$), mas no grupo de chá verde, as medidas não diferiram entre os momentos ($F = 0,535$; $P = 0,594$). Nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos na condição basal em pré ($P = 0,761$), pós 0 h ($P = 0,818$) e pós 48 h ($P = 0,138$). Pós-suplementação a AChE não apresentou efeito do exercício no grupo placebo ($F = 0,027$; $P = 0,973$) e chá verde ($F = 2,36$; $P = 0,122$). Nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos na condição de pós-suplementação em pré ($P = 0,193$), pós 0 h ($P = 0,536$) e pós 48 h ($P = 0,587$).

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO, medida por DCFH) na condição basal não diferiu entre pré, pós 0 h e pós 48 h no placebo ($F = 4,20$; $P = 0,135$) e chá verde ($F = 0,60$; $P = 0,830$), sendo que os grupos também não diferiram entre si no pré e pós 0 h (pré: $P = 0,749$; pós 0h: $P = 0,423$), mas no pós 48 h antes da suplementação, o grupo de chá verde apresentou maior produção de ERO ($P = 0,007$). No pós-suplementação não houve efeito do exercício no placebo ($F = 0,80$; $P = 0,710$) e chá verde ($F = 0,66$; $P = 0,763$), e os grupos não diferiram entre si (pré: $P = 0,431$; pós 0 h: $P = 0,317$; pós 48 h: $P = 0,492$).

A peroxidação lipídica (TBARS), na condição basal, não apresentou efeito do exercício tanto no grupo placebo ($F = 0,18$; $P = 0,911$) quanto no grupo chá verde ($F = 0,21$; $P = 0,898$). Nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos (pré: $P = 0,494$; pós 0 h: $P = 0,462$; pós 48 h: $P = 0,916$). O mesmo comportamento foi observado após suplementação para o efeito do exercício no grupo placebo ($F = 1,80$; $P = 0,405$) e chá verde ($F = 0,73$; $P = 0,692$) e na comparação entre os grupos em pré ($P = 0,918$), pós

0 h ($P = 0,629$) e pós 48 h ($P = 0,433$). A atividade da Glutathione (GSH), na condição basal, não apresentou efeito do exercício no grupo placebo ($F = 1,24$; $P = 0,537$) e chá verde ($F = 0,19$; $P = 0,906$). Os grupos diferiram entre si nas medidas pré ($P = 0,049$) e pós 0 h ($P = 0,049$), mas não na pós 48 h ($P = 0,880$). Pós-suplementação o exercício também não teve efeito na GSH no grupo placebo ($F = 0,01$; $P = 0,991$) e chá verde ($F = 0,78$; $P = 0,670$), e os grupos não diferiram entre si (pré: $P = 0,232$; pós 0 h: $P = 0,122$; pós 48 h: $P = 0,097$).

Na condição basal, a capacidade antioxidante total do plasma (FRAP), não apresentou efeito do exercício no grupo placebo ($F = 0,31$; $P = 0,732$) e chá verde ($F = 2,27$; $P = 0,131$). Nenhuma diferença foi encontrada na capacidade antioxidante total entre os grupos na condição basal (pré: $P = 0,605$; pós 0 h: $P = 0,814$; pós 48 h: $P = 0,685$). O mesmo foi observado após suplementação. FRAP não teve efeito do exercício no grupo placebo ($F = 1,10$; $P = 0,352$) e chá verde ($F = 1,55$; $P = 0,238$), e os grupos não diferiram entre si (pré: $P = 0,947$; pós 0 h: $P = 0,940$; pós 48 h: $P = 0,658$).

Em condições basais, a carbonilação de proteínas (CARBONIL) não teve efeito do exercício no grupo placebo ($F = 0,94$; $P = 0,406$) e chá verde ($F = 0,27$; $P = 0,763$), e os grupos não diferiram entre si (pré: $P = 0,837$; pós 0 h: $P = 0,297$; pós 48 h: $P = 0,664$). Após a suplementação, os mesmos comportamentos foram observados para o efeito do exercício (grupo placebo: $F = 0,71$; $P = 0,503$ e grupo chá verde: $F = 10,01$; $P = 0,898$) e comparação entre os grupos (pré: $P = 0,615$; pós 0 h: $P = 0,937$; pós 48 h: $P = 0,860$).

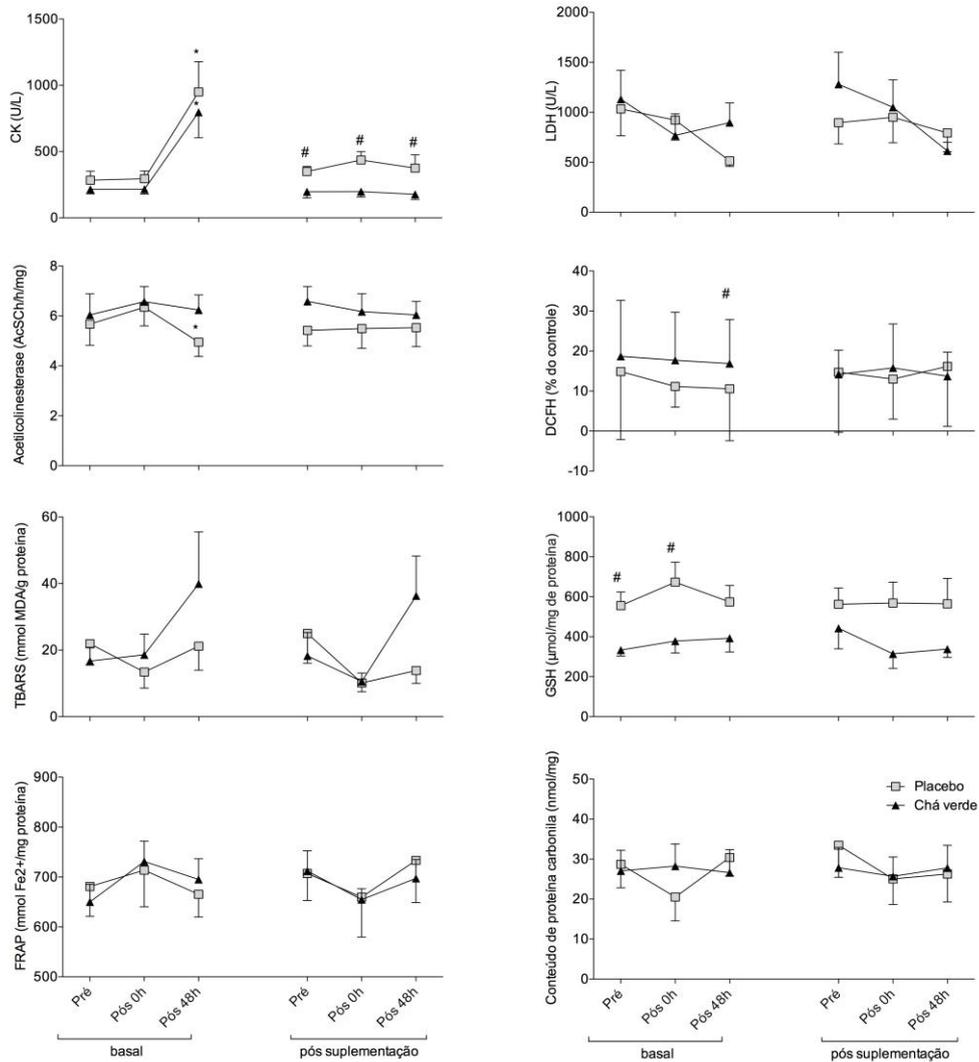


Figura 3. Marcadores de dano muscular, estresse oxidativo e status antioxidante. * indica diferença em relação a pré e pós 0h ($P < 0,05$, Anova). # Indica diferença entre os grupos ($P < 0,05$; Anova, teste t independente).

5.5. Discussão

Neste estudo determinamos o efeito de um período de suplementação com extrato de chá verde, que tem reconhecidas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, sobre a dor muscular de início tardio (DMIT), dano muscular, estresse

oxidativo e status antioxidante, em adultos não treinados. A DMIT limita tarefas da vida diária e a realização de exercícios físicos, por isso, existe interesse em minimizar esse fenômeno. Nós mostramos que a suplementação com chá verde não afeta a percepção de DMIT, mas atenua a atividade da creatina quinase (CK), considerada um importante marcador de dano muscular. Esperávamos que, por possuir propriedades antioxidantes, o chá verde minimizasse o estresse oxidativo e potencializasse o status antioxidante após a suplementação, mas isso não foi observado.

O protocolo de indução de DMIT utilizado se demonstrou efetivo, causando percepção de dor semelhante a estudos prévios que também investigaram estratégias de suplementação na DMIT (Arent, Senso et al. 2010, Romain, Freitas et al. 2017). A percepção de dor não diferiu entre os grupos suplementados com chá verde ou placebo. A primeira pergunta nesse sentido pode ser sobre a dose empregada. Doses maiores em períodos de suplementação menores, por exemplo, 1.500 mg/dia de polifenóis administrados durante 5 dias (Romain, Freitas et al. 2017) e 1.760 mg/dia ao longo de 9 dias (Arent, Senso et al. 2010) resultaram em menor percepção de DMIT, ao mesmo tempo que doses ainda maiores e por mais tempo (6.450 mg/dia ao longo de 14 dias) não tiveram efeito na DMIT (Rynders, Weltman et al. 2014). Adicionalmente, parece que o tipo de exercício realizado pode ter um efeito, visto que quando um grupo muscular específico é exercitado, uma dose alta administrada por duas semanas não reduz a DMIT (Rynders, Weltman et al. 2014), ao passo que há redução da DMIT no caso de exercício para o corpo inteiro e/ou grupos musculares maiores (Arent, Senso et al. 2010, Romain, Freitas et al. 2017). A menor DMIT que encontramos na segunda sessão de exercício para ambos os grupos pode resultar de um processo adaptativo já descrito na literatura e que pode refletir uma mudança no recrutamento de unidades motoras e adaptações neuromusculares (Stauber 1989).

A atividade da creatina quinase (CK) após a indução de DMIT foi menor no grupo que recebeu suplementação com chá verde. Embora esse resultado não tenha se repetido para a DMIT marcadores oxidativos, importantes implicações podem ser destacadas. O aumento na CK sugere que fibras musculares foram danificadas pelo exercício (Stebbins, Moore et al. 2014). Entretanto, no pós-suplementação o extrato de chá verde diminuiu a atividade da CK 48 horas após exercício (pico da DMIT), embora não tenha sido suficiente para diminuir a sensação de DMIT. Considerando que a CK catalisa trocas reversíveis de ligações de fosfato de alta energia entre fosfocreatina e ADP no citoplasma durante o exercício (Brancaccio, Lippi et al. 2010), sua menor atividade no plasma, mesmo no período pré e pós 0 h após suplementação, sugere que o organismo está utilizando uma outra via metabólica para a produção energia.

Existem evidências de que as catequinas do chá verde aumentam a utilização de energia proveniente da oxidação de gorduras durante o período de recuperação pós exercício e induzem um aumento na concentração da proteína GLUT 4 (Tsai, Chang et al. 2017). Assim, a menor atividade da CK – essencial ao processo de ressíntese do ATP – pode refletir de forma positiva sobre a menor sensação de cansaço, uma vez que outra fonte de produção de energia está sendo intensificada pela suplementação com chá verde. Esse efeito pode resultar da ação antioxidante da suplementação. Com suplementação de vitamina C em configurações similares ao que fizemos aqui para o extrato de chá verde, a atividade de CK reduziu e aumentou a atividade da GLUT 4 em 24 h depois de exercício excêntrico para bíceps (Bryer and Goldfarb 2006).

A suplementação não mostrou efeito no estresse oxidativo avaliado pré, imediatamente e 48 h após o exercício. Os marcadores de estresse oxidativo em resposta ao dano muscular podem retornar aos valores basais em 48 h, como observado em mulheres após exercícios excêntricos para o quadríceps (Paschalis, Nikolaidis et al. 2007). No caso de suplementação com vitamina E, marcadores de

estresse oxidativo mostraram alteração 4 dias depois do exercício, retornando a níveis basais 7 dias depois do exercício (Silva, Pinho et al. 2010). Dada essa variabilidade na resposta oxidativa, pode ser que as alterações bioquímicas tenham acontecido em janelas temporais diferentes dos momentos em que avaliamos os parâmetros bioquímicos em nosso estudo. Contudo, em um protocolo de elevação do calcanhar para fadiga como o nosso, a dor muscular é altamente induzida, como observamos. Então não parece restar dúvidas de que houve dano muscular. Em medidas de dano muscular e estresse oxidativo feitas 2 h, 4 h, 24 h, 48 h, 72 h e 96 h pós exercício de elevação do calcanhar as mudanças na CK foram similares ao que encontramos, e assim como em nosso estudo, marcadores de estresse oxidativo e inflamação não apresentaram mudanças (Kanda, Sugama et al. 2014).

Outro fator que não podemos excluir na discussão dos marcadores oxidativos e de inflamação é a dieta dos participantes. Nós orientamos os participantes sobre a dieta durante a participação no estudo. Uma alimentação ou jejum intermitente não afeta a percepção de dor muscular tardia, mas afeta marcadores de dano muscular (Dannecker, Liu et al. 2013). Embora a CK tenha apresentado um efeito da suplementação, não podemos excluir a influencia dessa condição sobre os demais marcadores determinados a partir de amostras sanguíneas.

Nosso estudo possui como possíveis limitações à falta de medidas de produção de força, um dos sintomas mais visíveis após o dano muscular estrutural (McHugh, Connolly et al. 1999). Também a determinação da dose de suplementação pode ser um limitante, embora tenhamos considerado as evidências na literatura ao escolher a dosagem. Por fim, apesar de termos orientado os participantes quanto à dieta, um controle rigoroso das refeições ajudaria a minimizar a influência da alimentação sobre os resultados.

5.6. Conclusão

A suplementação com extrato de chá verde não atenua a percepção de dor muscular de início tardio induzida pelo exercício, mas oferece um efeito protetivo ao dano muscular estrutural, manifestado pela menor atividade da enzima creatina quinase em todos os períodos analisados.

Dessa forma, o extrato de chá verde pode ser uma estratégia nutricional importante para praticantes de exercício físico em período de recuperação, mas seus mecanismos ainda precisam ser melhor investigados.

5.7. Referências

Arent, S. M., M. Senso, D. L. Golem and K. H. McKeever (2010). "The effects of theaflavin-enriched black tea extract on muscle soreness, oxidative stress, inflammation, and endocrine responses to acute anaerobic interval training: a randomized, double-blind, crossover study." J Int Soc Sports Nutr **7**(1): 11.

Benzie, I. F. and J. J. Strain (1996). "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay." Anal Biochem **239**(1): 70-76.

Brancaccio, P., G. Lippi and N. Maffulli (2010). "Biochemical markers of muscular damage." Clin Chem Lab Med **48**(6): 757-767.

Bryer, S. C. and A. H. Goldfarb (2006). "Effect of high dose vitamin C supplementation on muscle soreness, damage, function, and oxidative stress to eccentric exercise." Int J Sport Nutr Exerc Metab **16**(3): 270-280.

Corder, K. E., K. R. Newsham, J. L. McDaniel, U. R. Ezekiel and E. P. Weiss (2016). "Effects of Short-Term Docosahexaenoic Acid Supplementation on Markers of

Inflammation after Eccentric Strength Exercise in Women." J Sports Sci Med **15**(1): 176-183.

Dannecker, E. A., Y. Liu, R. S. Rector, T. R. Thomas, S. P. Sayers, C. Leeuwenburgh and B. K. Ray (2013). "The effect of fasting on indicators of muscle damage." Exp Gerontol **48**(10): 1101-1106.

Eichenberger, P., S. Mettler, M. Arnold and P. C. Colombani (2010). "No effects of three-week consumption of a green tea extract on time trial performance in endurance-trained men." Int J Vitam Nutr Res **80**(1): 54-64.

Ellman, G. L., K. D. Courtney, V. Andres and R. M. Feather-Stone (1961). "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity." Biochem Pharmacol **7**: 88-95.

Halliwell, B. (2006). "Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life." Plant Physiol **141**(2): 312-322.

Herrlinger, K. A., D. M. Chirouzes and M. A. Ceddia (2015). "Supplementation with a polyphenolic blend improves post-exercise strength recovery and muscle soreness." Food Nutr Res **59**: 30034.

Hissin, P. J. and R. Hilf (1976). "A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues." Anal Biochem **74**(1): 214-226.

Jowko, E. (2015). Green Tea Catechins and Sport Performance. Antioxidants in Sport Nutrition. M. Lamprecht. Boca Raton (FL).

Jowko, E., B. Dlugolecka, B. Makaruk and I. Cieslinski (2015). "The effect of green tea extract supplementation on exercise-induced oxidative stress parameters in male sprinters." Eur J Nutr **54**(5): 783-791.

Jowko, E., J. Sacharuk, B. Balasinska, J. Wilczak, M. Charnas, P. Ostaszewski and R. Charnas (2012). "Effect of a single dose of green tea polyphenols on the blood markers of exercise-induced oxidative stress in soccer players." Int J Sport Nutr Exerc Metab **22**(6): 486-496.

Kanda, K., K. Sugama, J. Sakuma, Y. Kawakami and K. Suzuki (2014). "Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage." Exerc Immunol Rev **20**: 39-54.

Kim, J. and J. Lee (2014). "A review of nutritional intervention on delayed onset muscle soreness. Part I." J Exerc Rehabil **10**(6): 349-356.

Kuo, Y. C., J. C. Lin, J. R. Bernard and Y. H. Liao (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.

Levine, R. L., D. Garland, C. N. Oliver, A. Amici, I. Climent, A. G. Lenz, B. W. Ahn, S. Shaltiel and E. R. Stadtman (1990). "Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins." Methods Enzymol **186**: 464-478.

Loetchutinat, C., S. Kothan, S. Dechsupa, J. Meesungnoen, J. Jay-Gerin and S. Mankhetkorn (2005). "Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 20,70-dichlorofluorescein diacetate assay." Radiat Phys Chem **72**: p. 323-331,.

McHugh, M. P., D. A. Connolly, R. G. Eston and G. W. Gleim (1999). "Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect." Sports Med **27**(3): 157-170.

Ohkawa, H., N. Ohishi and K. Yagi (1979). "Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction." Anal Biochem **95**(2): 351-358.

Paschalis, V., M. G. Nikolaidis, I. G. Fatouros, G. Giakas, Y. Koutedakis, C. Karatzaferi, D. Kouretas and A. Z. Jamurtas (2007). "Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise." In Vivo **21**(5): 877-883.

Romain, C., T. T. Freitas, F. J. Martinez-Noguera, C. Laurent, S. Gaillet, L. H. Chung, P. E. Alcaraz and J. Cases (2017). "Supplementation with a Polyphenol-Rich Extract, TensLess(R) , Attenuates Delayed Onset Muscle Soreness and Improves Muscle Recovery from Damages After Eccentric Exercise." Phytother Res.

Rynders, C. A., J. Y. Weltman, S. D. Rynders, J. Patrie, J. McKnight, F. I. Katch, J. Hertel and A. Weltman (2014). "Effect of an herbal/botanical supplement on recovery from delayed onset muscle soreness: a randomized placebo-controlled trial." J Int Soc Sports Nutr **11**: 27.

Schimidt, H. L., A. Garcia, A. Martins, P. B. Mello-Carpes and F. P. Carpes (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.

Silva, L. A., C. A. Pinho, P. C. Silveira, T. Tuon, C. T. De Souza, F. Dal-Pizzol and R. A. Pinho (2010). "Vitamin E supplementation decreases muscular and oxidative damage but not inflammatory response induced by eccentric contraction." J Physiol Sci **60**(1): 51-57.

Stauber, W. T. (1989). "Eccentric action of muscles: physiology, injury, and adaptation." Exerc Sport Sci Rev **17**: 157-185.

Stebbins, C. L., J. L. Moore and G. A. Casazza (2014). "Effects of cadence on aerobic capacity following a prolonged, varied intensity cycling trial." J Sports Sci Med **13**(1): 114-119.

Tsai, T. W., C. C. Chang, S. F. Liao, Y. H. Liao, C. W. Hou, J. P. Tsao and I. S. Cheng (2017). "Effect of green tea extract supplementation on glycogen replenishment in exercised human skeletal muscle." Br J Nutr **117**(10): 1343-1350.

PARTE III

6. COMENTÁRIOS COMPLEMENTARES A DISCUSSÃO

Como destacamos ao longo do presente estudo o uso da suplementação com antioxidantes vem ganhando grande destaque em pesquisas envolvendo respostas neuromusculares e fisiológicas ao exercício físico. Com base nos principais resultados do nosso estudo, apresentados no formato de um artigo científico, concluímos que a suplementação com o extrato de chá verde não alterou a percepção de dor muscular de início tardio (DMIT), mas influenciou a atividade da CK, um importante marcador do dano estrutural ao músculo esquelético.

Apesar dessas limitações, nossos resultados nos oferecem um patamar positivo em relação aos efeitos do extrato do chá verde utilizado para recuperação após o exercício físico, pois um importante marcador de dano muscular (CK) foi atenuado no grupo suplementado com extrato de chá verde. Considerando que a percepção de dor é algo que acompanha o dano muscular mas que diminui com a adaptação ao exercício, o efeito da suplementação sobre o marcador de dano se mostra promissor.

Um efeito sobre a percepção de dor seria importante pois a tolerância a dor é um fator limitante à prática, mas não observamos esse efeito em nosso estudo. Em estudos prévios, a DMIT foi atenuada pela suplementação com chá verde antes de exercício envolvendo grandes grupos musculares (Arent, Senso et al. 2010). Como abordado anteriormente, a etiologia da DMIT envolve eventos intrinsecamente correlacionados, como um dano muscular estrutural no músculo, seguido de um processo inflamatório que pode exacerbar situações que levam ao estresse oxidativo e, conseqüentemente, contribuir para um dano de origem metabólica (Pereira Panza,

Diefenthaler et al. 2015). Ao mensuramos marcadores de estresse oxidativo e marcadores de defesas antioxidantes observamos uma grande variabilidade nos resultados de sujeitos do mesmo grupo.

Marcadores de dano oxidativo e de status antioxidante não mudaram significativamente em resposta ao período de suplementação, mas mostraram grande variabilidade (Figura 4). Nosso estudo incluiu participantes que não tinham uma rotina regular de exercícios físico, ou seja, justamente pessoas que mais sofrem com a dor muscular de início tardio. Este fato pode ter influenciado as respostas ao exercício físico, ocasionando um possível processo adaptativo ao protocolo de indução da DMIT e simultaneamente aos efeitos da suplementação ao longo dos 15 dias de intervenção.

Conforme discutimos em nosso artigo, existem outros fatores que podem ter influenciado essa variabilidade, como a dieta mantida pelos participantes durante os dias do estudo (Vetrani, Costabile et al. 2013), ou mesmo a alimentação ou jejum intermitente no dia em que os experimentos foram realizados (Dannecker, Liu et al. 2013). Embora tenhamos os orientado sobre a manutenção de uma dieta normal e evita a ingestão de outras potentes fontes de antioxidantes (vitamina C, por exemplo), não podemos descartar esse efeito. Contudo, alterar a dieta dos participantes de maneira abrupta também poderia incorrer em efeitos sobre os níveis de marcadores sanguíneos que investigamos. Para minimizar esse efeito, poderíamos ter administrado uma refeição padrão determinado tempo antes da coleta das amostras de sangue.

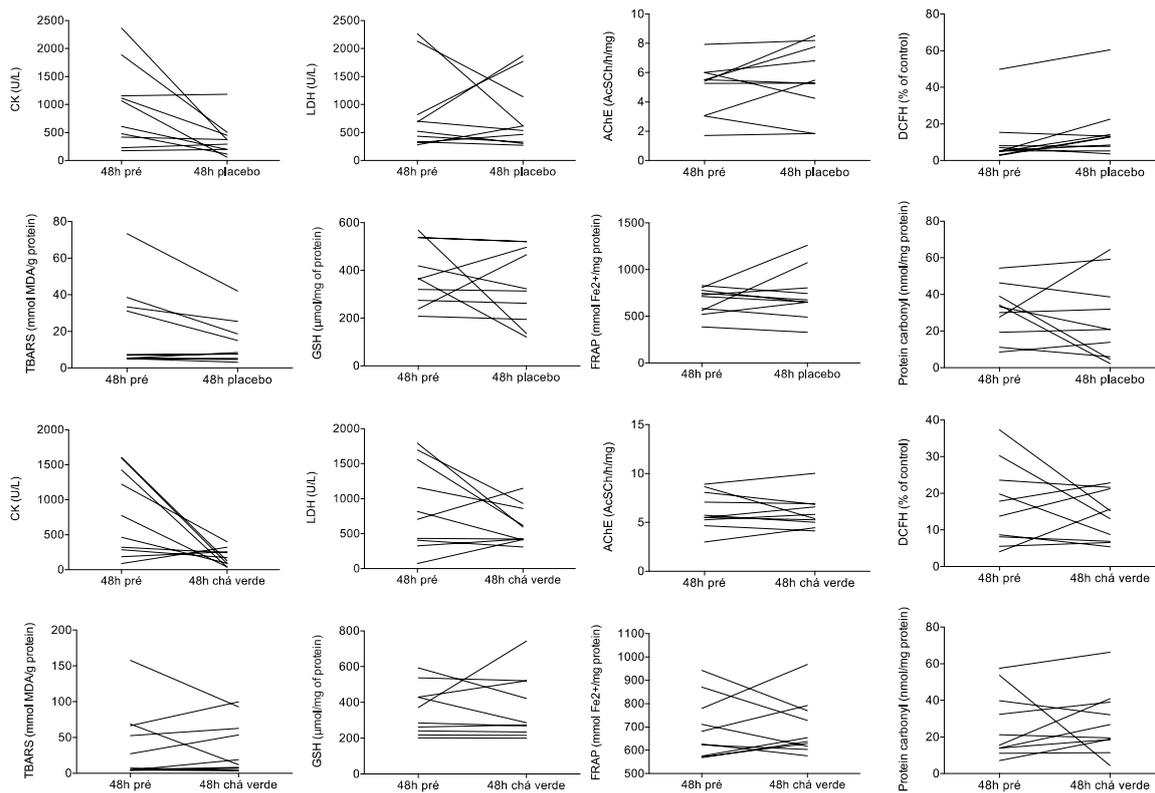


Figura 4. Detalhamento dos resultados de marcadores de dano muscular, estresse oxidativo e status antioxidante nos grupos placebo e controle. A figura apresenta as respostas individuais para o momento pós 48h do exercício, em cada um dos grupos.

O resultado a que mais discutimos foi a menor atividade observada para a creatina quinase (CK). O monitoramento da atividade da CK durante o período de recuperação tem sido sugerido como ferramenta útil para um diagnóstico prévio da condição estrutural do músculo e como uma forma de monitorar atletas para evitar possíveis complicações que venham a ser instauradas em decorrência do exercício, e assim poder assegurar um período de recuperação adequado; ou seja, o monitoramento da atividade da CK permite estimar o estado do músculo após exercício (Brancaccio, Maffulli et al. 2007). A maior atividade de CK pode sugerir risco de lesão, muito embora este tipo de associação deva levar em consideração também a intensidade da carga de treinamento (Mougios 2007). Esse efeito já tinha sido

descrito na literatura, mas nossa principal contribuição aqui é em mostrar que uma dose maior e administrada por um tempo menor, teve efeitos positivos. Cabe recordar que nossa dosagem foi baseada em um estudo anterior que administrou 250 mg/dia durante 4 semanas (Kuo, Lin et al. 2015), a qual dobramos em quantidade e reduzimos pela metade em tempo de administração (500 mg/dia, durante 15 dias).

Mas demais marcadores importantes não sofreram alteração. Esperávamos que os marcadores de estresse oxidativo e status antioxidante respondessem à suplementação, como observado para outros sistemas e tecidos fisiológicos (Flores, Martins et al. 2014; Schimidt, Vieira et al. 2014; Altermann, Souza et al. 2017; Schimidt, Garcia et al. 2017). É possível que o momento em que as amostras foram tomadas possa ter influenciado os resultados. Talvez as mudanças na percepção de dor, estresse oxidativo e status antioxidante não tenham ocorrido na mesma linha do tempo do que a CK. Como discutimos no artigo, a suplementação com vitamina C reduz a atividade da CK 48 h após o exercício, acompanhada de um aumento na atividade da glutathione 4 e 24 h após o exercício (Bryer and Goldfarb 2006). Além disso, a suplementação com vitamina E melhorou níveis de marcadores de estresse oxidativo 4 dias após o período de intervenção, voltando aos valores basais 7 dias após (Silva, Pinho et al. 2010). Em nosso estudo mensuramos a atividade da glutathione (GSH) imediatamente após o exercício e 48 h após; não fizemos coletas 4 e 24 h após o exercício. Fato semelhante pode ter sido observado durante a análise de marcadores bioquímicos de estresse oxidativo, uma vez que o estresse oxidativo pode ter sido rapidamente contrabalanceado e 48 h após o exercício já ter retornado aos valores basais. Embora nossos dados bioquímicos tenham mostrado alta variabilidade, eles não destoam do reportado por Kanda e colaboradores (Kanda, Sugama et al. 2014) usando o mesmo protocolo de indução da DMIT. Os autores não encontraram mudanças nos marcadores de estresse oxidativo e também não discutem sobre a variabilidade ou resultados individuais na amostra considerada.

7. CONCLUSÕES

Frente aos objetivos gerais e específicos postos para o desenvolvimento desta dissertação de mestrado, concluímos que:

- A suplementação com chá verde (500 mg/dia, durante 15 dias) não altera a percepção de dor muscular tardia;
- A suplementação com chá verde atenua a atividade da creatina quinase, considera um importante marcador do dano muscular estrutural;
- A suplementação com chá verde não altera marcadores de estresse oxidativo determinados no plasma;
- A suplementação com chá verde não altera o status antioxidante determinado pela capacidade antioxidante total;

Dessa forma, a suplementação investigada pode servir como uma estratégia de proteção ao dano muscular gerado pelo exercício, mas seus mecanismos ainda precisam ser melhor determinados, uma vez que observamos grande variabilidade nos dados individuais.

7.1. Perspectivas

A finalização desta fase da investigação nos deixa algumas perspectivas futuras para elucidar o papel da suplementação com chá verde sobre o desempenho muscular. A principal pergunta que buscaremos investigar no futuro é se a suplementação tem potencial para minimizar efeitos do dano muscular em sessões repetidas de exercício físico, uma vez que nosso protocolo considerou apenas um efeito agudo. Um potencial protetor para exercícios em sessões repetidas pode ter um papel importante no contexto do rendimento esportivo.

Assim como em sessões repetidas de exercício, o papel da suplementação para exercícios com diferentes características de via energética, como atividades de força, potência e endurance precisa ser melhor investigado, uma vez que a literatura parece indicar que o tipo de exercício realizado, independente da intensidade, tenha uma influência significativa no efeito da suplementação sobre a dor muscular de início tardio e também o dano muscular.

Por fim a literatura se mostra bastante controversa e divergente quanto a dosagem, pois como discutimos, não fica evidente se doses maiores podem resultar em ganhos, tampouco se o período de suplementação tem um efeito. Aqui optamos por adaptar um protocolo da literatura onde reduzimos o tempo de suplementação e aumentamos a dose, obtendo um efeito sobre a atividade da creatina quinase mas sem sucesso em reduzir a percepção de dor, o que seria importante sobre o ponto de vista de desempenho de atividades da vida diária.

8. REFERÊNCIAS

- 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.
- Arent, S. M., M. Senso, et al. (2010). "The effects of theaflavin-enriched black tea extract on muscle soreness, oxidative stress, inflammation, and endocrine responses to acute anaerobic interval training: a randomized, double-blind, crossover study." J Int Soc Sports Nutr **7**(1): 11.
- Borrayo-Sanchez, G., F. Sosa-Jarero, et al. (2006). "[Qualitative determination of markers for myocardial necrosis during pre-hospital admission for acute coronary syndrome]." Cir Cir **74**(4): 231-235.
- Brancaccio, P., G. Lippi, et al. (2010). "Biochemical markers of muscular damage." Clin Chem Lab Med **48**(6): 757-767.
- Brancaccio, P., N. Maffulli, et al. (2007). "Creatine kinase monitoring in sport medicine." Br Med Bull **81-82**: 209-230.
- Brown, S. J., R. B. Child, et al. (1997). "Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contractions." J Sports Sci **15**(2): 215-222.
- Bryer, S. C. and A. H. Goldfarb (2006). "Effect of high dose vitamin C supplementation on muscle soreness, damage, function, and oxidative stress to eccentric exercise." Int J Sport Nutr Exerc Metab **16**(3): 270-280.
- Butterfield, T. M., T. M. Best, et al. (2006). "The dual roles of neutrophils and macrophages in inflammation: a critical balance between tissue damage and repair." Journal of Athletic Training **41**(4): 457-465.
- Chacko, S. M., P. T. Thambi, et al. (2010). "Beneficial effects of green tea: a literature review." Chin Med **5**: 13.

- Cheung, K., P. Hume, et al. (2003). "Delayed onset muscle soreness : treatment strategies and performance factors." Sports Med **33**(2): 145-164.
- Clarkson, P. M. and M. J. Hubal (2002). "Exercise-induced muscle damage in humans." Am J Phys Med Rehabil **81**(11 Suppl): S52-69.
- Cleak, M. J. and R. G. Eston (1992). "Delayed onset muscle soreness: mechanisms and management." J Sports Sci **10**(4): 325-341.
- Connolly, D. A., S. P. Sayers, et al. (2003). "Treatment and prevention of delayed onset muscle soreness." J Strength Cond Res **17**(1): 197-208.
- Crespy, V. and G. Williamson (2004). "A review of the health effects of green tea catechins in in vivo animal models." J Nutr **134**(12 Suppl): 3431S-3440S.
- Douglas, J., S. Pearson, et al. (2017). "Eccentric Exercise: Physiological Characteristics and Acute Responses." Sports Med **47**(4): 663-675.
- Eichenberger, P., S. Mettler, et al. (2010). "No effects of three-week consumption of a green tea extract on time trial performance in endurance-trained men." Int J Vitam Nutr Res **80**(1): 54-64.
- Enoka, R. M. (2000). Bases Neuromecânicas da Cinesiologia Manole.
- Eston, R. G., J. Mickleborough, et al. (1995). "Eccentric activation and muscle damage: biomechanical and physiological considerations during downhill running." Br J Sports Med **29**(2): 89-94.
- 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.
- Friden, J. and R. L. Lieber (1992). "Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury." Med Sci Sports Exerc **24**(5): 521-530.
- Greenhaff, P. I., R. J. Maughan, et al. (2000). Bioquímica do exercício e do treinamento. São Paulo.
- Halliwell, B. (2006). "Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life." Plant Physiol **141**(2): 312-322.

- Halliwell, B. and J. M. Gutteridge (1984). "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease." Biochem J **219**(1): 1-14.
- Haramizu, S., N. Ota, et al. (2013). "Catechins suppress muscle inflammation and hasten performance recovery after exercise." Med Sci Sports Exerc **45**(9): 1694-1702.
- He, F., J. A. Hockemeyer, et al. (2015). "Does combined antioxidant vitamin supplementation blunt repeated bout effect?" Int J Sports Med **36**(5): 407-413.
- Herrlinger, K. A., D. M. Chirouzes, et al. (2015). "Supplementation with a polyphenolic blend improves post-exercise strength recovery and muscle soreness." Food Nutr Res **59**: 30034.
- Herzog, W., K. Powers, et al. (2015). "A new paradigm for muscle contraction." Front Physiol **6**: 174.
- Hessel, A. L., S. L. Lindstedt, et al. (2017). "Physiological Mechanisms of Eccentric Contraction and Its Applications: A Role for the Giant Titin Protein." Front Physiol **8**: 70.
- Isner-Horobeti, M. E., S. P. Dufour, et al. (2013). "Eccentric exercise training: modalities, applications and perspectives." Sports Med **43**(6): 483-512.
- Jowko, E. (2015). Green Tea Catechins and Sport Performance. Antioxidants in Sport Nutrition. M. Lamprecht. Boca Raton (FL).
- Jowko, E., B. Dlugolecka, et al. (2015). "The effect of green tea extract supplementation on exercise-induced oxidative stress parameters in male sprinters." Eur J Nutr **54**(5): 783-791.
- Jowko, E., J. Sacharuk, et al. (2012). "Effect of a single dose of green tea polyphenols on the blood markers of exercise-induced oxidative stress in soccer players." Int J Sport Nutr Exerc Metab **22**(6): 486-496.

- Kanda, K., K. Sugama, et al. (2014). "Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage." Exerc Immunol Rev **20**: 39-54.
- Kim, J. and J. Lee (2014). "A review of nutritional intervention on delayed onset muscle soreness. Part I." J Exerc Rehabil **10**(6): 349-356.
- 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.
- LaStayo, P. C., J. M. Woolf, et al. (2003). "Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sport." J Orthop Sports Phys Ther **33**(10): 557-571.
- M.R. Moradporian , Z. A., A.Esparham, C.Venkatesh (2014). "EFFECT OF GREEN TEA COMPARE TO VITAMIN E AND VITAMIN C ON OXIDATIVE STRESS AND MUSCLE SORENESS IN TREADMILL DOWNHILL RUNNING." WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES **Volume 3**(Issue 2): 8.
- Malaguti, M., C. Angeloni, et al. (2013). "Polyphenols in exercise performance and prevention of exercise-induced muscle damage." Oxid Med Cell Longev **2013**: 825928.
- 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.
- McHugh, M. P., D. A. Connolly, et al. (1999). "Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect." Sports Med **27**(3): 157-170.
- Mizumura, K. and T. Taguchi (2016). "Delayed onset muscle soreness: Involvement of neurotrophic factors." J Physiol Sci **66**(1): 43-52.

- Moradporian, M. R., Z. Ashkavand, et al. (2014). "Effect of green tea compare to vitamin E and vitamin C on oxidative stress and muscle soreness in treadmill downhill running." World Journal of Pharmacy and Pharmaceutial Sciences **Volume 3(2)**: 8.
- Morgan, D. L. (1990). "New insights into the behavior of muscle during active lengthening." Biophys J **57(2)**: 209-221.
- Mougios, V. (2007). "Reference intervals for serum creatine kinase in athletes." Br J Sports Med **41(10)**: 674-678.
- Narkhede, A. N., S. D. Jagtap, et al. (2016). "Anti-fatigue effect of Amarkand on endurance exercise capacity in rats." BMC Complement Altern Med **16**: 23.
- Nigro, G., L. I. Comi, et al. (1983). "Prospective study of X-linked progressive muscular dystrophy in Campania." Muscle Nerve **6(4)**: 253-262.
- Paulsen, G., U. R. Mikkelsen, et al. (2012). "Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise?" Exerc Immunol Rev **18**: 42-97.
- Peake, J., K. Nosaka, et al. (2005). "Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans." Exerc Immunol Rev **11**: 64-85.
- Pereira Panza, V. S., F. Diefenthaler, et al. (2015). "Benefits of dietary phytochemical supplementation on eccentric exercise-induced muscle damage: Is including antioxidants enough?" Nutrition **31(9)**: 1072-1082.
- Pfeiffer, F. E., H. A. Homburger, et al. (1983). "Creatine kinase BB isoenzyme in CSF in neurologic diseases. Measurement by radioimmunoassay." Arch Neurol **40(3)**: 169-172.
- Proske, U. and D. L. Morgan (2001). "Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications." J Physiol **537(Pt 2)**: 333-345.

- Roomi, M. W., V. Ivanov, et al. (2005). "In vitro and in vivo antitumorigenic activity of a mixture of lysine, proline, ascorbic acid, and green tea extract on human breast cancer lines MDA-MB-231 and MCF-7." Med Oncol **22**(2): 129-138.
- Rynders, C. A., J. Y. Weltman, et al. (2014). "Effect of an herbal/botanical supplement on recovery from delayed onset muscle soreness: a randomized placebo-controlled trial." J Int Soc Sports Nutr **11**: 27.
- 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.
- Silva, L. A., C. A. Pinho, et al. (2010). "Vitamin E supplementation decreases muscular and oxidative damage but not inflammatory response induced by eccentric contraction." J Physiol Sci **60**(1): 51-57.
- Stebbins, C. L., J. L. Moore, et al. (2014). "Effects of cadence on aerobic capacity following a prolonged, varied intensity cycling trial." J Sports Sci Med **13**(1): 114-119.
- Talbot, J. A. and D. L. Morgan (1996). "Quantitative analysis of sarcomere non-uniformities in active muscle following a stretch." J Muscle Res Cell Motil **17**(2): 261-268.
- Tidball, J. G. and S. A. Villalta (2010). "Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **298**(5): R1173-1187.
- Urso, M. L. and P. M. Clarkson (2003). "Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation." Toxicology **189**(1-2): 41-54.

- Vane, J. and R. Botting (1987). "Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs." FASEB J **1**(2): 89-96.
- Vetrani, C., G. Costabile, et al. (2013). "Nutrition and oxidative stress: a systematic review of human studies." Int J Food Sci Nutr **64**(3): 312-326.
- Waltner-Law, M. E., X. L. Wang, et al. (2002). "Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production." J Biol Chem **277**(38): 34933-34940.
- Waterman-Storer, C. M. (1991). "The cytoskeleton of skeletal muscle: is it affected by exercise? A brief review." Med Sci Sports Exerc **23**(11): 1240-1249.

ANEXOS

Anexo I – Normas do *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 detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should 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. **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](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB in total. Any single file should not exceed 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

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.

RESEARCH DATA

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

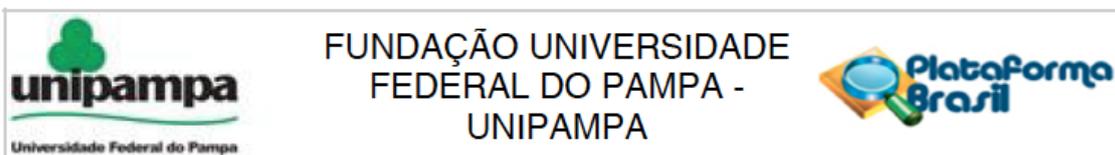
This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. Before submitting your article, you can deposit the relevant datasets to *Mendeley Data*. Please include the DOI of the deposited dataset(s) in your main manuscript file. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

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 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. De acordo com o proponente:

Endereço: Campus Uruguiana BR 472, Km 592

Bairro: Prédio Administrativo - Sala 23 - Caixa

UF: RS

Município: URUGUAIANA

CEP: 97.500-970

Telefone: (55)3911-0202

E-mail: cep@unipampa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.236.253

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 reincidentes 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: cep@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 aquele 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 Uruguiana 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 co 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 ha 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 08:39:36	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	Álvaro 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 Uruguaiiana 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

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 CEP: 97.500-970
UF: RS Município: URUGUAIANA
Telefone: (55)3911-0202 E-mail: cep@unipampa.edu.br