

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO**

MATHEUS DA SILVEIRA COSTA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE UVA NO DESEMPENO FÍSICO DE
RATOS PERANTE CARGAS DE TREINO EXTENUANTES**

JOÃO PESSOA – PB

2019

MATHEUS DA SILVEIRA COSTA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE UVA NO DESEMPENHO FÍSICO DE
RATOS PERANTE CARGAS DE TREINO EXTENUANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva

JOÃO PESSOA – PB

2019

Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C838e Costa, Matheus da Silveira.

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE UVA NO DESEMPENHO
FÍSICO DE RATOS PERANTE CARGAS DE TREINO EXTENUANTES /
Matheus da Silveira Costa. - João Pessoa, 2019.
40 f.

Orientação: Alexandre Sérgio Silva Silva.
Dissertação (Mestrado) - UFPE/CCS.

1. alimentos ergogênicos. 2. performance. 3. exercício.
I. Silva, Alexandre Sérgio Silva. II. Título.

UFPE/BC

MATHEUS DA SILVEIRA COSTA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE UVA NO DESEMPENHO FÍSICO DE
RATOS PERANTE CARGAS DE TREINO EXTENUANTES**

Dissertação _____ em ____/____/2019

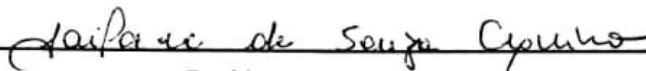
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva

Coordenador da Banca Examinadora

UFPB/Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Educação física



Prof.^a Dr.^a. Jailane de Souza Aquino

Examinadora interna

UFPB/Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Nutrição



Prof. Dr. José Luiz de Brito Alves

Examinador Interno – suplente

UFPB/Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Nutrição



Prof. Dr. Enéas Ricardo de Moraes Gomes

Examinador externo

UFPB/Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Nutrição



Prof.^a Dr.^a. Aline Telles Biasoto Marques

Examinadora Externa - suplente

Embrapa/Petrolina-PE

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir ter essa experiência maravilhosa, bem como pelas pessoas que me fizeram chegar até aqui e as que eu tive o prazer de conhecer e me aproximar durante este período.

Agradeço a minha família; pai, mãe, irmãs. Por ter sempre me fornecido uma base forte de amor, onde eu sempre pude construir coisas edificantes. Vocês que sempre acreditaram e estimularam a buscar o melhor de mim, fornecendo todo apoio para que eu chegasse até aqui.

Aos meus amigos de sempre Marlos Wanderley Sá, Flávio Almeida, Eduardo Lincoll, Haula Hamad, Renally Lucas, Yago Paolo, Danilo Coura, Felipe Mariz com quem eu sempre pude compartilhar minhas experiências de vida.

A professora Edilamar Menezes por ter permitido que eu realizasse análises moleculares em seu laboratório, e aos seus alunos, por terem me recepcionado muitíssimo bem durante todo o período que eu precisei ficar na USP.

A professora Jailane, por abrir as portas de seu laboratório para que eu pudesse desenvolver toda a minha pesquisa, bem como pela colaboração de todos os integrantes do LANEX.

Ao professor Enéas e a Dr. Valério, por terem me ajudado realizando as análises ecocardiográficas.

A Lindembergue, pelo cuidado com os animais e por toda assistência que nos deu no LANEX.

Aos secretários da pós-graduação em nutrição, Seu Carlos Fernando e Marcos Hermínio, bem como Ricardo, da Pós-graduação de Educação física, que sempre foram solícitos no atendimento.

Ao meu orientador, o Professor Alexandre Sérgio, por todas as orientações durante esse período do mestrado. Agradeço por toda contribuição acadêmica e por todos os ensinamentos que me fizeram crescer como ser humano.

Aos verdadeiros amigos que eu fiz na UFPB; Mateus Duarte, Lydiane Toscano, Reabias Andrade, Bruno Virginio, Eder Jackson, Victor Augusto, Valter Azevedo, Eduardo Amorim, Valbério Candido, Klécia Sena, Vanessa Montenegro, Luciana Toscano, Iara Leão, Elba Ferreira. Vocês são o maior e o melhor fruto que esse mestrado me proporcionou. Agradeço por vocês estarem ao meu lado fazendo com que esse momento, além de crescimento acadêmico, trouxesse amadurecimento pessoal e espiritual.

Ao CNPq por todo o apoio financeiro destinado a realização do presente trabalho.

RESUMO

Para atingir o máximo de suas potencialidades, atletas costumam levar uma rotina de treinamento extenuante. Embora o treinamento físico seja associado a benefícios à saúde cardiometabólica, atletas em condições de excesso de treinamento com inadequada recuperação desencadeia estresse oxidativo e aumento da inflamação sistêmica, com concomitante redução da performance esportiva. Por outro lado, a literatura tem demonstrado um número crescente de estudos em que frutas se mostraram capazes de melhorar a performance física devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Porém, até o momento não existem investigações se estas propriedades minimizam os danos provocados pelo excesso de treinamento. Sendo a uva roxa uma das frutas com maior capacidade antioxidante, o objetivo deste estudo é avaliar o potencial dos seus derivados na atenuação de parâmetros de excesso de treino induzido por um protocolo de treinamento extenuante em ratos. Foram utilizados 15 ratos *wistar* machos, distribuídos em: grupo controle (CON) (não suplementando e sem exercício); grupo treinado (EXC) (não suplementado e treinado); grupo treinado e suplementado com suco de uva (EXS). Os animais treinados realizaram 11 semanas de treinamento com cinco sessões semanais até a 7ª semana, com aumento brusco para 2 a 3 sessões /dia até a 11ª semana. Todos os grupos fizeram teste de desempenho físico após semana de adaptação, 4ª, 8ª e 11ª semanas. Após este último teste os animais fizeram um teste comportamental e ecocardiograma, sendo posteriormente sacrificados para coletado sangue e retirada do fígado, cérebro e coração para análises de estresse oxidativo e os músculos (sóleo/extensor longo) para análise de expressão proteica. Quando avaliada a performance física, na quarta semana o grupo EXS teve uma melhora de $80\pm64\%$ e o grupo EXC apenas $25\pm8\%$, enquanto isso, o grupo CON apresentou um decréscimo de $24\pm19\%$. Na 8ª semana o grupo EXS melhorou em $206\pm62\%$ enquanto o grupo EXC $136\pm98\%$. Na 11ª semana o desempenho aumentou em $263\pm80\%$ no grupo suplementado, mas apenas 154 ± 171 no grupo EXC. Neste momento, o grupo CON apresentou apenas uma discreta melhora da performance de $25\pm55\%$. Não foram observadas diferenças estatísticas na performance, mas o D de Cohen indicou *effect size* de 1,33 na quarta semana, de 0,96 na 8ª semana e 0,91 na 11ª semana quando comparado grupo controle ativo ao suplementado. As variáveis de estresse oxidativo malondialdeído e a capacidade antioxidante total se comportaram de forma similar entre os grupos, assim como a ansiedade não diferiu entre os grupos. Deste modo, conclui-se que a suplementação do suco de uva promove melhoria da performance física de animais perante cargas regulares de treino e impede a estagnação do desempenho físico perante cargas excessivas. Entretanto esse efeito não é mediado pela atenuação de indicadores de estresse oxidativo.

Palavras-chave: alimentos ergogênicos, performance, exercício.

ABSTRACT

To reach their full potential, athletes often lead a strenuous training routine. Although physical training is associated with cardiometabolic health benefits, athletes in overtraining conditions with inadequate recovery triggers oxidative stress and increased systemic inflammation, with a concomitant reduction in sports performance. On the other hand, the literature has shown an increasing number of studies in which fruits are able to improve physical performance due to their antioxidant and anti-inflammatory properties. However, so far there are no investigations as to whether these properties minimize the damage caused by overtraining. As the purple grape is one of the fruits with the highest antioxidant capacity, the objective of this study is to evaluate the potential of its derivatives in the attenuation of overtraining parameters induced by a strenuous training protocol in rats. Fifteen male Wistar rats were used, distributed in: control group (CON) (not supplementing and without exercise); trained group (EXC) (not supplemented and trained); exercise group supplemented with grape juice (EXS). The trained animals underwent 11 weeks of training with five weekly sessions up to week 7, with a sharp increase to 2-3 sessions / day until week 11. All groups took physical performance test at the 4th, 8th and 11th week. After this last test the animals performed a behavioral test and echocardiogram, and were later sacrificed for blood collection and liver, brain and heart removal for oxidative stress analysis and the muscles (soleus / extensor longus) for protein expression analysis. When the physical performance was evaluated, in the fourth week the EXS group had an improvement of $80 \pm 64\%$ and the EXC group only $25 \pm 8\%$, while the CON group showed a decrease of $24 \pm 19\%$. At week 8 the EXS group improved by $206 \pm 62\%$ while the EXC group $136 \pm 98\%$. At week 11 performance increased by $263 \pm 80\%$ in the supplemented group but only 154 ± 171 in the EXC group. At this time, the CON group showed only a slight performance improvement of $25 \pm 55\%$. No statistical differences in performance were observed, but Cohen's D indicated an effect size of 1.33 in the fourth week, 0.96 in the 8th week and 0.91 in the 11th week when compared to the active control group. Malondialdehyde and total antioxidant capacity behaved similarly between the groups, as anxiety did not differ between the groups. Thus, it is concluded that the supplementation of grape juice promotes improvement of the physical performance of animals under regular training loads and prevents the stagnation of physical performance under excessive loads. However, this effect is not mediated by attenuation of oxidative stress indicators.

Keywords: ergogenic foods, performance, exercise.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

Figura 1 – Desenho experimental.....	30
---	-----------

FIGURAS DO ARTIGO

Figura 1 – Massa corporal e consumo alimentar.....	57
Figura 2 – Testes de performance.....	59
Figura 3 – Níveis de capacidade antioxidante total e Malondialdeído.....	60

TABELAS E QUADROS

TABELAS E QUADROS DA DISSERTAÇÃO

Quadro 1 –Variáveis da carga de treino.....	19
Quadro 2 – Ferramentas para monitoração das cargas de treino.....	25
Quadro 3 – Protocolo de treinamento.....	30
Tabela 1 – características físico-químicas, compostos fenólicos, coloração, antocianinas e atividade antioxidante do suco	33
Tabela 2 – Quantificação dos compostos fenolicos em miligramas/litro (mg/L) no suco de uva.....	34

TABELAS E QUADROS DO ARTIGO

Tabela 1 - Características iniciais dos animais.....	56
Quadro 1 – Teste comportamental.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adreno corticotrófico
AKT	Proteína Kinase B
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AST	Aspartato aminotransferase
CAT	Capacidade antioxidante total
CK	Creatina quinase
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EXS	Exercício suplementado com suco de uva
EXV	Exercício suplementado com vinho
EUA	Estados Unidos da América
GH	Hormônio do crescimento
GSD	Glutathione
HHA	Hipotálamo hipófise adrenal
IL-1β	Interleucina 1 β
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
LDH	Lactato desidrogenase
MDA	Malondialdeído
<i>mTOR</i>	<i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
NFOR	Overreaching não funcional
POMS	Perfil dos Estados de Humor
PI3K	Fosfatidilinositol 3 Quinase
RNA	Ácido ribonucleico

ROS	Espécies reativas de oxigênio
SH	Grupamentos sulfidril
SOD	Superóxido dismutase
SOT	Síndrome do overtraining
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TNF-a	Fator de necrose tumoral
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VE	Ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEORICO.....	13
2.1 OVERREACHING FUNCIONAL, OVERREACHING NÃO FUNCIONAL E OVERTRAINING.....	13
2.2 PREVALÊNCIA DA SINDROME DO OVERTRAINING.....	14
2.3 MECANISMO ENVOLVIDOS NA SINDROME DO OVERTRAINING E FERRAMENTAS DE DIAGNOSTICO.....	15
2.4 POTENCIAL ERGOGÊNICO ALIMENTOS.....	21
2.5 UVA E DERIVADOS COMO RECURSO ERGOGÊNICO.....	22
2.6 VINHO E OUTRAS BEBIDAS ALCOOLICAS: INFLUÊNCIA SOBRE A SAÚDE.....	23
2.7 INGESTÃO ÁLCOOLICA: SAÚDE E DESEMPENHO ESPORTIVO.....	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
3.1 DESENHO EXPERIMENTAL.....	28
3.2 PROTOCOLO DE ADAPTAÇÃO.....	29
3.3 PROTOCOLO DE TREINAMENTO.....	29
3.4 TESTES DE PERFORMANCE.....	30
3.5 PROTOCOLO DE SUPLEMENTAÇÃO.....	30
3.6 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPOREA E CONTROLE DO CONSUMO DE RAÇÃO.....	32
3.7 TESTE DO CAMPO ABERTO.....	32
3.8 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	32
3.9 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO VENTRICULAR POR ECOCARDIOGRAMA.....	33
3.10 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS.....	33
3.11 HOMOGENEIZAÇÃO DOS TECIDOS.....	34
3.12 MALONDIALDÉIDO E SULFIDRIL.....	34
3.13 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL, CATALASE, GLUTATIONA TRANSFERASE.....	34
3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
REFERÊNCIAS.....	37
ANEXOS.....	57
ANEXO A TESTE DO CAMPO ABERTO.....	58
ANEXO B TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	59
ARTIGO.....	60

1 INTRODUÇÃO

Para atingir o máximo de suas potencialidades, atletas de alto nível treinam com cargas mais elevadas possíveis (SCHWELLNUS *et al.*, 2016). Se por um lado, os fortes estímulos podem gerar máximas adaptações que vão melhorar o desempenho (HUGHES; ELLEFSEN; BAAR, 2017), por outro lado, estas rotinas de treinamento são praticadas dentro de uma margem de risco de excesso de treinamento. Nestes casos, os atletas podem sofrer um efeito reverso, com o desenvolvimento de *overreaching* não funcional (perda do desempenho sem maiores repercussões) (SCHMIKLI *et al.*, 2011) ou até mesmo *overtraining* (deterioração da performance física que pode perdurar por meses), o que pode comprometer toda a temporada de treinamento e ainda com serias consequências clínicas para vida do atleta (SMITH, L. L., 2000; KREHER; SCHWARTZ, 2012).

Quando o atleta se encontra em estado de *overreaching* não funcional ou *overtraining*, ele está fisiologicamente perturbado. Dentre as perturbações fisiológicas, o sistema de defesa antioxidante pode estar comprometido (MARIN *et al.*, 2013). Nesta perspectiva, tem sido demonstrado que o treinamento intenso e o descanso inadequado aumentam sobremaneira a produção de espécies reativas de oxigênio, suplantando o sistema de defesa endógeno, podendo ocasionar deterioração da condição física do atleta (MARGONIS *et al.*, 2007; TANSKANEN, M.; ATALAY; UUSITALO, 2010).

Enquanto o estresse oxidativo é um efeito deletério ocasionado por cargas de treino/recuperação inadequados, a uva tem demonstrado uma potencial capacidade antioxidante e anti-inflamatória em condições *in vitro* (YOUSSEF *et al.*, 2019) e em pessoas com doenças associadas ao estresse oxidativo, como as enfermidades cardiovasculares (LEIFERT; ABEYWARDENA, 2008). Enquanto isso, alguns pesquisadores induziram estresse oxidativo em animais com protocolos de treinamento e demonstraram que o suco orgânico da uva roxa (DALLA CORTE *et al.*, 2013) e a quercetina (antioxidante presente na uva) (HALEAGRAHARA *et al.*, 2009) minimizaram este efeito.

No contexto esportivo, foi demonstrado que os polifenóis extraídos do vinho tinto exerceram efeito ergogênico, melhorando a capacidade física de ratos e atenuando indicadores de estresse oxidativo (DAL-ROS *et al.*, 2011; MINEGISHI *et al.*, 2011).

Em humanos, a suplementação do suco de uva por 28 dias foi capaz de atenuar indicadores de estresse oxidativo e aprimorar o desempenho de corredores (TOSCANO, L. *et al.*, 2015). Além disso, a ingestão do extrato da uva durante 30 dias promoveu melhora da performance de atletas de handball acompanhada de diminuição de estresse oxidativo (Lafay et al. 2009).

A despeito desses interessantes dados, uma possível proteção do suco de uva contra o estresse oxidativo desencadeado por cargas de treino pesadas ou excessivas ainda não foi verificada, mesmo considerando que o estresse oxidativo participa da etiologia das repercussões negativas do excesso de treinamento. Desse modo, este estudo foi desenvolvido para testar a hipótese de que o suco de uva tinto é capaz de minimizar o estresse oxidativo e, conseqüentemente, evitar a perda de desempenho de ratos expostos a um protocolo de treinamento com cargas excessivas, adotando-se para isto um protocolo de treinamento inicialmente com cargas consideradas usuais (uma sessão por dia) e aumento para cargas excessivas (três sessões por dia), que foi previamente desenvolvido para promover o fenômeno da síndrome do overtraining.

O objetivo geral do trabalho consiste em analisar o potencial do suco de uva no desempenho físico, estresse oxidativo e sinais de overtraining em ratos expostos a um protocolo de treinamento validado para promover desgaste físico severo. Como objetivos específicos, ter-se-á:

- Caracterizar um vinho e um suco quanto aos compostos fenólicos;
- Determinar o efeito da suplementação com vinho e suco de uva tintos no desempenho físico dos animais;
- Determinar o efeito da suplementação com vinho e suco de uva tintos em marcadores de estresse oxidativo;
- Determinar o efeito da suplementação com vinho e suco de uva tintos no estado de ansiedade;
- Determinar o efeito da suplementação com vinho e suco de uva tintos nas estruturas e função cardíacas observáveis por ecocardiograma de ratos expostos um protocolo de treinamento intenso destinado a promover overtraining;

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ADAPTAÇÃO ÀS CARGAS DE TREINO

Adaptações biológicas são mudanças funcionais e estruturais dentro de um sistema orgânico (SELYE, 1950). No contexto desportivo, entendem-se adaptações como as alterações funcionais dos órgãos e sistemas que são demandados em decorrência da prática desportiva (WEINECK, 1989). Tubino defende que quando o organismo sofre estresse físico, mecanismos compensatórios vão responder a um aumento das necessidades fisiológicas. A magnitude da adaptação, depende da magnitude do estresse, de modo que o estímulo estressor pode ser classificado como débil, que não irá acarretar em nenhuma adaptação, o estímulo médio apenas excita, mas estímulos médios a fortes geram estresse suficiente para desencadear adaptações (TUBINO, 2003).

Uma vez que atletas dependem de máximas adaptações para obterem máximos ganhos de desempenho, afim de obter o sucesso esportivo, os estímulos proporcionados pelo treinamento devem ser sempre suficientemente fortes para promover esta adaptação (HUGHES; ELLEFSEN; BAAR, 2017). Entretanto, se o estímulo for considerado muito forte (TUBINO, 2003), vai superar a capacidade de adaptação do organismo e causar danos, os quais caracterizados por perda de rendimento esportivo e disfunção fisiológica que pode evoluir para um estado patológico e aumentado prevalência de lesões (CARFAGNO; HENDRIX, 2014). Na prática atletas vivem no limiar entre o estímulo forte e muito forte, o que o coloca sempre entre o máximo sucesso esportivo possível e os efeitos deletérios do excesso de treinamento. O fato adicional de que não existem critérios objetivos para se determinar quando o estímulo é forte ou muito forte, torna muito desafiante o processo de treinamento de um atleta de alto nível.

Os treinos físicos diários promovem uma óbvia fadiga aguda, com redução da capacidade física após cada sessão (MEEUSEN, ROMAIN, 2013). Entretanto, durante o período de recuperação, o organismo lança mão de fenômenos que vão não somente restaurar a capacidade física perdida ao final da sessão, como também se recupera ficando mais competente que antes, caracterizando o fenômeno da adaptação. É nisso que consiste a evolução da capacidade de desempenho induzida

pelas sessões de treinamento (SMITH, D. J., 2003; AUBRY *et al.*, 2015a). Em termos práticos, treinadores aplicam este princípio de desgaste / recuperação de uma sessão para outra, mas acumulando fadiga com algumas sessões conjuntas de treinamentos, seguida de alguns dias de recuperação (MUJKA, 2011). A proposta é que o desgaste provocado por um acúmulo de cargas seguidas de treino promova uma maior resposta adaptativa do organismo.

O desgaste promovido por sessões seguidas de treinamento, mas que resulta em adaptação após um período de descanso recebe o nome de *overreaching* (DUPUY *et al.*, 2013), e pode ser classificado em funcional e não-funcional. O *overreaching* funcional é definido como um decréscimo de curto período no desempenho como resultado de aumento do estresse pelo treinamento. É uma parte habitual do processo de treinamento de atletas e sua recuperação para um desempenho regular ocorre dentro de alguns dias (MEEUSEN, ROMAIN *et al.*, 2013). Quando são fornecidos períodos adequados de recuperação, um efeito de "supercompensação" pode ocorrer com o atleta exibindo desempenho aprimorado em comparação com os níveis basais (AUBRY *et al.*, 2015b).

Entretanto, quando carga de treino, período de descanso e fator nutricional não estão ajustados, a supercompensação não acontece. Consequentemente isso ocasiona estagnação ou perda da performance, que pode perdurar por semanas ou meses, caracterizando neste caso um outro tipo de *overreaching* denominado de "overreaching não funcional" (NFOR) (KAJAIA *et al.*, 2017). Neste caso, o atleta não apresenta a recuperação e supercompensação pretendidas, de modo que sua performance não evolui (KAJAIA *et al.*, 2017).

Existe, entretanto, uma situação ainda pior do que *overreaching* não funcional. Trata-se dos casos em que além da ausência de recuperação / supercompensação, a carga de treino é tão intensa ou o período de recuperação / nutrição é tão insuficiente que, além de não haver evolução do desempenho, ocorrem disfunções patológicas no organismo. Estas alterações patológicas atingem vários sistemas, sendo por isso denominada de síndrome (CARFAGNO; HENDRIX, 2014). A síndrome do overtraining (SOT) é definida como um transtorno imunoneuroendócrino que acompanha um declínio no desempenho, incapacidade de manter cargas de treinamento, fadiga persistente, doenças frequentes, sono perturbado e alterações no estado de humor. Estes aspectos da disfunção imunoneuroendócrino acompanhada de queda no desempenho e alterações comportamentais estão presentes nas diversas definições

da SOT (MACKINNON, 2000; SMITH, L. L., 2000; ANGELINE *et al.*, 2004; BANDYOPADHYAY; BHATTACHARJEE, 2012).

Uma vez que o atleta se adaptou à carga de treino, as sessões que antes eram pesadas, tornam-se mais confortáveis. Ocorre que, para atingir a excelência esportiva, o atleta não pode se manter neste nível de conforto. É necessário aumentar as cargas de treino, para promover novo estresse, novo desencadeamento dos mecanismos de adaptação. Esta constante necessidade de aumento das cargas é caracterizada como um princípio do treinamento desportivo, denominado de princípio da sobrecarga (TUBINO). O princípio da sobrecarga expõe que se deve fornecer um estímulo adequado para alcançar uma adaptação física, fisiológica ou de desempenho desejada. Fundamentalmente, a sobrecarga é o treino ou treinamento que vai além dos níveis normais da capacidade física habitual do praticante de atividade física. Para que seja capaz de ocasionar sobrecarga o estímulo deve ser modulado em um ou mais componentes da carga, como por exemplo volume e intensidade (STONE; PLISK; COLLINS, 2007).

Se por um lado o atleta está sempre aplicando o princípio da sobrecarga para obter o máximo de adaptação, e conseqüentemente de aumento no desempenho, por outro lado, se essa sobrecarga foi demasiadamente aplicada, ou se o descanso não for suficiente, o atleta isto pode superar a capacidade de adaptação do organismo, levando o atleta aos fenômenos do *overreaching* não funcional ou *overtraining*.

2.2 CONTROLE DAS CARGAS DE TREINO

Para assegurar que um atleta treine com a maior carga de treino possível, mas sem superar a capacidade de adaptação (gerando *overreaching* não funcional ou *overtraining*), a estratégia mais aceita atualmente é monitorar as respostas adaptativas do atleta por meio de ferramentas de controle das cargas de treino (HALSON, 2014).

As cargas de treino são classificadas em cargas externas e cargas internas (MUJICA, 2017), conforme diagrama do quadro 1. As cargas externas representam o estímulo físico que é imposto ao atleta, como o volume de treinamento, a intensidade, o tipo de exercício, os intervalos, a frequência semanal. Entretanto, atletas podem reagir distintamente a uma mesma carga externa, a depender de suas condições

fisiológicas (por exemplo, uma corrida de 10km representa uma carga diferente para um maratonista ou atleta de fisiculturismo). Deste modo, a forma como cada atleta responde ao treinamento é denominada carga interna de treinamento.

Considerando que as cargas internas de treinamento são observadas pela resposta fisiológica, vários marcadores têm sido usados para quantificar a carga interna de cada atleta individualmente. Estes marcadores vão do desgaste muscular provocado pela sessão de treino até o estresse oxidativo promovido por esta mesma sessão. O quadro 1 mostra uma síntese destes marcadores.

Quadro 1 – variáveis da carga de treino

Cargas de Treino	
Carga externa	Carga interna
Volume	PSE
Intensidade	Dano muscular
Densidade	inflamação
	Estresse oxidativo
	Frequência cardíaca
	Variabilidade da frequência cardíaca

PSE, percepção subjetiva do esforço

Dano muscular: o exercício físico envolve ações de alongamento muscular (excêntricas) que podem resultar em ruptura da estrutura muscular, comprometimento da contração, inflamação e degradação da proteína muscular (OWENS *et al.*, 2018). Este processo está associado a dor muscular de início tardio e é referido como dano muscular induzido pelo exercício (BAUMERT *et al.*, 2016) . Um dos protocolos utilizados para avaliação indireta de dano muscular é a realização de um exercício extenuante seguidamente de uma nova prova após quatro horas de repouso (KARP; JOHNSTON, 2006). Esse dano muscular, no entanto, costuma ser acompanhado de aumento em seus respectivos indicadores bioquímicos como; creatina kinase (CK) (GILSON *et al.*, 2010), lactato desidrogenase (LDH) (TSITSIMPIKOU *et al.*, 2013), 3-metil-histidina (CORSETTI *et al.*, 2016) e DNA sérico (BEITER *et al.*, 2011). Uma vez

que ocorra perturbações nas concentrações desses indicadores, pode haver o comprometimento da performance esportiva (MAGAL *et al.*, 2010).

Estudos demonstram que um dano muscular leve promove uma perda da capacidade de geração de força em torno de 20% e uma rápida recuperação, enquanto o dano moderado compromete a capacidade de geração de força em até 50% e requer de 5 a 7 dias para que ocorra a recuperação. O dano muscular severo ocasiona uma perda da geração de força maior que 50% e requer mais de 7 dias para que aconteça a recuperação (PAULSEN *et al.*, 2012).

Processo inflamatório - A inflamação é uma resposta fisiológica do sistema imunológico a estímulos nocivos, como irritantes, patógenos e células danificadas. Mediada por uma variedade de fatores solúveis, incluindo um grupo de polipeptídios segregados conhecidos como citocinas (GOMEZ-CABRERA; VIÑA; JI, 2016). As citocinas são moléculas importantes na sinalização celular e são reguladoras das respostas imunes do hospedeiro a infecção, inflamação e trauma, inclusive os traumas causados pelo exercício físico (TOVAR-Y-ROMO, 2017). Já é bastante evidente na literatura que o treinamento físico tem um efeito anti-inflamatório (PEDERSEN, 2017), entretanto, na SOT ocorre um desequilíbrio entre a expressão de compostos pró-inflamatórios e anti-inflamatórios (MAIN *et al.*, 2010).

Sendo o processo inflamatório um mecanismo bastante elucidativo sobre a etiologia da SOT, o mesmo ganhou o status de teoria (SMITH, L. L., 2000; ANGELINE *et al.*, 2004). A conexão proposta entre inflamação (mediada por citocinas) e SOT é relacionada ao trauma musculoesquelético induzido pelo exercício agudo resultando na liberação de fatores inflamatórios locais (SMITH, L. L., 2000, 2003). Com o contínuo treinamento de alta intensidade e descanso limitado, tipicamente associado a SOT, a inflamação aguda local torna-se crônica e as citocinas liberadas neste processo ativam os monócitos circulantes (SMITH, L. L., 2000, 2003). Os monócitos ativados produzem grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias, resultando em inflamação sistêmica. A inflamação sistêmica é proposta como o fenômeno central da SOT (SMITH, L. L., 2000). O sistema nervoso central responde ao processo inflamatório com alteração de humor e apetite (PEREIRA, B. C. *et al.*, 2015), hiperatividade simpática (TIAN *et al.*, 2013), aumento na produção de cortisol (TANSKANEN, M. M. *et al.*, 2011) e alteração do eixo hipotálamo hipófise gonadal, que resulta em redução de produção de testosterona (SAFARINEJAD; AZMA; KOLAH, 2009).

Quanto aos marcadores inflamatórios, os mais destacados na literatura são as citocinas, um grupo de glicoproteínas responsáveis pela coordenação da resposta inflamatória, determinando fatores como regulação da magnitude e duração (SILVA; MACEDO, 2011). As citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α , IL-6) e as anti-inflamatórias (IL-4, IL-8) são utilizadas para detecção de inflamação (SMITH, L. L., 2000; GOMEZ-CABRERA; VIÑA; JI, 2016)

A esse respeito, um grupo de pesquisadores monitorou o treinamento de atletas remadores por oito semanas que antecederam o campeonato mundial dessa modalidade e observou uma associação entre a expressão de citocinas IL-1- β e TNF- α com distúrbios de humor e insônia (MAIN *et al.*, 2010). Um outro estudo, em modelo animal, observou que ratos submetidos a um protocolo de exercício extenuante, apresentaram perfil de citocinas pró inflamatórias elevado concomitante a diminuição do consumo alimentar e peso corporal (PEREIRA, B. C. *et al.*, 2015). Um grupo de pesquisadores investigou os efeitos de um protocolo de treinamento extenuante sobre o estado inflamatório de ratos, no referido estudo constatou-se alterações nas citocinas pró inflamatórias IL-6, TNF- α , IL-10 no grupo experimental quando comparado ao grupo controle (GHOLAMNEZHAD *et al.*, 2014).

Desequilíbrio redox – Sob determinadas circunstâncias, o excesso da produção de ROS, sobressaindo-se aos sistemas antioxidantes endógenos (SOD, catalase e GSD) exógenos (vitaminas A,C,E) pode causar danos e / ou modificação de lipídios, proteínas, RNA e DNA, levando a um estado redox que é frequentemente referido como estresse oxidativo (VALKO *et al.*, 2007). O exercício físico é uma reconhecida ferramenta capaz de aumentar a produção de compostos indicadores de dano oxidativo após a realização de uma única sessão (ALLOUI *et al.*, 2017). Esses impactos podem gerar respostas adaptativas favoráveis como o aumento da capacidade antioxidante do organismo, caso ofertadas as condições de descanso adequadas. Entretanto, as cargas excessivas de treino são capazes de provocar um aumento demasiado desses compostos, acarretando em prejuízo da performance esportiva e consequentemente SOT.

O estresse oxidativo é estimado utilizando vários métodos e parâmetros como danos as membranas lipídicas (malondialdeído) (TARTIBIAN; MALEKI, 2012), proteínas e DNA (8-hydroxyguanine) (HARMS-RINGDAHL; JENSSEN; HAGHDOOST, 2012) e medindo a atividade de enzimas antioxidantes (Superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase) (TARTIBIAN; MALEKI, 2012;

CARVALHO-PEIXOTO *et al.*, 2016) ou as concentrações de antioxidantes não enzimáticos (vitamina C, E, A) (TOSCANO, L. *et al.*, 2015; MCLEAY *et al.*, 2017).

Nesse contexto, um estudo em modelo animal avaliou os efeitos de um protocolo de overtraining sobre marcadores de estresse oxidativo e constatou alterações das variáveis (aumento de TBARS e diminuição da atividade do complexo IV) acompanhada de prejuízos na performance física dos animais (FERRARESSO *et al.*, 2012). Um outro grupo de pesquisa examinou os impactos de um protocolo de exercício desgastante de cinco dias por semana durante oito semanas e constatou dano ao DNA e células musculares, diminuição dos níveis de glutathione com aumento de marcadores de estresse oxidativo no músculo e no sangue acompanhado por decréscimo no desempenho físico dos animais do grupo experimental quando comparados ao controle (PEREIRA, B. *et al.*, 2013). Um outro estudo abordando atletas, majoritariamente praticantes de modalidades de endurance, examinou parâmetros de estresse oxidativo entre os participantes que relataram sintomas de overtraining e observou aumento da carbonilação proteica, constatando aumento dos níveis de estresse oxidativo no grupo overtraining comparado ao grupo controle (TANSKANEN, M.; ATALAY; UUSITALO, 2010)

Função autonômica cardíaca - A função autonômica cardíaca é um relevante marcador que reflete a modulação cardíaca por componentes simpáticos e vagais do sistema nervoso autônomo (DONG, 2016). Uma das variáveis utilizadas para mensurar os componentes da função autonômica é a monitoração da variabilidade da frequência cardíaca (VFC). Embora a aplicação clínica da VFC esteja associada principalmente à predição da morte cardíaca súbita e à avaliação da progressão de doenças cardiovasculares (KUBOTA *et al.*, 2017) e metabólicas (SILVA-E-OLIVEIRA *et al.*, 2017), observações recentes sugerem sua aplicabilidade ao treinamento físico (BELLENGER *et al.*, 2016).

A VFC está se tornando uma das ferramentas mais utilizadas de monitoramento de treinamento e recuperação em ciências do esporte (PLEWS *et al.*, 2013). A possibilidade de aplicar VFC baseia-se no fato de que a regulação autonômica cardíaca é um indicador importante das adaptações ao treinamento (HOTTENROTT; HOOS; ESPERER, 2006).

Percebe-se que durante o início da atividade física, os intervalos R-R tornam-se mais curtos e mais uniformes, resultantes do aumento da atividade simpática e da

retirada parassimpática, podendo fornecer informações adicionais sobre o estresse fisiológico e níveis de fadiga durante e após o treinamento (SCHMITT *et al.*, 2015).

O instrumento padrão utilizado para avaliar a função autonômica cardíaca é o eletrocardiograma. Entretanto, outras ferramentas mais acessíveis e de mais baixo custo tem sido adotadas, como monitores de frequência cardíaca (GILLINOV *et al.*, 2017) e smartphones com cintas bluetooth (PLEWS *et al.*, 2017).

Um estudo observou que a VFC de atletas diagnosticados com SOT apresentava um predominância da atividade simpática enquanto participantes que mantinham uma rotina de treinamento moderada apresentou domínio da função parassimpática, evidenciando um efeito negativo da SOT na função cardíaca (MOUROT *et al.*, 2004). Uma outra pesquisa investigou a VFC de atletas de endurance com SOT, identificados através de uma triagem comparado a um grupo de atletas não afetados pela síndrome e constatou alteração entre o intervalo R-R e a variação do intervalo R-R (KIVINIEMI *et al.*, 2014).

Distúrbios hipotalâmicos – Quando o organismo sofre algum tipo de estresse e a homeostase é comprometida, hormônios são liberados para tentar reestabelecer a sua integridade (CANO SOKOLOFF; MISRA; ACKERMAN, 2016). Um dos fatores capazes de perturbar a integridade desse sistema é o exercício, que representa um potente estímulo fisiológico a nível hipotalâmico, tendo duas variáveis principais que modulam essa resposta ao exercício: intensidade e duração (DUCLOS; TABARIN, 2016).

Uma série de distúrbios hipotalâmicos ocorrem frente a SOT. Essas alterações afetam os eixos hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e hipotálamo-hipófise-gonadal, que podem ser responsáveis pela SOT. Os atletas de endurance podem apresentar mudanças sutis na função do eixo HHA, e atletas em overtraining costumam demonstrar alterações nas concentrações de cortisol e testosterona (HAYES *et al.*, 2015), hormônio adrenocorticotrófico (MEEUSEN, R. *et al.*, 2004), e outros níveis hormonais (ANGELINE *et al.*, 2004; HALSON; JEUKENDRUP, 2004). As alterações nos eixos HHA e hipotálamo-hipófise-gonadal são individualizadas e dependem de outros fatores, incluindo capacidade de realização de exercício e vulnerabilidade a outros agentes estressores (HALSON; JEUKENDRUP, 2004).

Nesse sentido, um estudo abordando 57 militares examinou os efeitos de um protocolo de treinamento depois da quarta e da sétima semana do início, sobre hormônios sexuais e cortisol e constatou concentrações aumentadas de globulina de

ligação ao hormônio sexual sérico e cortisol (TANSKANEN, M. M. *et al.*, 2011). Enquanto isso, uma revisão sistemática expõe que os dados ainda são heterogêneos para utilização do cortisol como indicador de SOT (ANDERSON; WIDEMAN, 2017). Por outro lado, uma outra revisão sistemática aponta o GH e o ACTH como indicadores confiáveis para detecção da SOT (CADEGIANI; KATER, 2017).

Alterações comportamentais - O exercício físico também causa perturbações na resposta em sítios dopaminérgicos, catecolaminérgicos e serotoninérgicos, devido a alterações na síntese e metabolismo de alguns aminoácidos. As variáveis utilizadas para observar essa resposta a nível neural são 5 – HT, dopamina, triptofano e serotonina (STRÜDER, 2003; ROHLFS *et al.*, 2005; MEEUSEN, ROMAIN *et al.*, 2007).

As alterações dopaminérgicas e catecolaminérgicas influenciam notoriamente no comportamento, explicando as perturbações de humor de atletas. Por este motivo, já foram propostos vários testes psicométricos destinados a quantificar o estado de humor ou depressão em atletas. Um dessas ferramentas utilizadas é o questionário de sintomas clínicos do overtraining é composto por 54 perguntas de respostas “sim” ou “não” que analisa aspectos das diferentes variáveis relacionadas a síndrome (MAURÍCIO GATTÁS BARA FILHO *et al.*, 2010). Uma outra ferramenta também utilizada para avaliação de parâmetros psicométricos é o questionário POMS, que consiste originalmente de 49 quesitos, porem esse mesmo instrumento foi validado para a língua portuguesa em uma versão mais resumida com 36 questões contemplando escalas de tensão, depressão, hostilidade, vigor, fadiga e confusão (VIANA; ALMEIDA; SANTO 2012).

De acordo com estas informações, o quadro 2 apresenta de forma resumida as ferramentas utilizadas para monitorar as cargas de treino.

Quadro 2 - Ferramentas para monitoração das cargas de treino

Fenômeno	Marcadores bioquímicos, neurais, comportamentais e de desempenho			
Dano muscular	CK	LDH	DNA	3-metil histidina
Inflamação Sistêmica	PCR	AGP		
Sistema Imune	IL 1, IL 6, TNF- α	Glutamina / Glutamato	Leucócitos	Imunoglobulinas
Estresse Oxidativo	SOD	MDA	GSH-px	CAT
Fatores Neurais	SNS	SNPS		
Sistema Hormonal	Testosterona	Cortisol	ACTH	Noradrenalina / Adrenalina
Testes Psicométricos	POMS	BRUMS	Questionário do Overtraining	RESTQ-Sport

CK: Creatina Quinase; LDH: Lactatodesidrogenase; PCR: Proteína C Reativa; AGP: Alfa-1 Glicoproteína; IL: Interleucinas; IgA: TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa; Imunoglobulina G; SOD: Superóxidodismutase; MDA: Malondialdeído; GSH-px: Glutathiona Peroxidase; CAT: Capacidade Antioxidante Total; SNS: Sistema Nervoso Simpático; SNPS: Sistema Nervoso Parassimpático; ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico; POMS: Perfil do Estado de Humor; BRUMS: Escala de Humor Brunel; RESTQ-Sport: Questionário de Estresse e recuperação para Atletas.

2.3 POTENCIAL DE ALIMENTOS COMO RECURSO ERGOGÊNICO

Visto os impactos causados pelo treinamento físico excessivo, observa-se na literatura um número crescente de estudos evidenciando o potencial de alimentos capazes de evitar desgaste nos sistemas fisiológicos afetados pelo overtraining ou impedir o desgaste deste sistema perante cargas de treino intensas. A esse despeito, existe um crescente no número de estudos originais testando o efeito ergogênico de alimentos (LUNN *et al.*, 2012; ABBAS MEAMARBASHI; ALI RAJABI, 2013; CARVALHO-PEIXOTO *et al.*, 2016), e ao menos uma revisão de literatura abordando, especificamente, o potencial de frutas para promover melhoria na performance física de atletas (NADERI *et al.*, 2018). A seguir serão detalhados mais estudos que evidenciam o efeito ergogênico dos alimentos.

Barbosa et al 2017 suplementou jogares de futebol por 30 dias com gergelim e constatou que os atletas obtiveram diminuição do estresse oxidativo (MDA), aumento de marcadores antioxidantes exógenos (vitamina A, vitamina E e vitamina C), diminuição de indicadores de dano muscular (CK e LDH) e estas melhoras foram acompanhadas de aumento da capacidade aeróbica em comparação ao grupo da mesma equipe que suplementou placebo.

Um estudo realizado avaliou o efeito da suplementação de mel por oito semanas em atletas ciclistas e observou diminuição de marcadores de inflamação (IL-1b, IL-6, IL-8, TNF-a), decréscimo de indicadores de estresse oxidativo (ROS e MDA) e aumento de marcadores antioxidantes (SOD, catalase e a capacidade antioxidante total) (TARTIBIAN; MALEKI, 2012).

Um outro interessante ensaio em modelo animal examinou os efeitos da suplementação de curcumina por 28 dias e observou aumento da força (através de um teste de preensão dianteira) e do tempo até a exaustão em uma prova de natação, acompanhado por redução de indicadores de dano muscular (CK, LDH, AST, ALT) e aumento do glicogênio muscular (HUANG *et al.*, 2015).

Porcelli et al 2016 examinou os efeitos da oferta de uma dieta rica em nitrato por seis dias para sete homens atletas recreacionais de basquete. Nesse ensaio, os autores constataram que uma dieta rica em nitrato é capaz de melhorar o desempenho desportivo comprovado através da reduz do consumo de oxigênio, maior capacidade de realização de exercício e melhor desempenho no teste de habilidade.

Uma investigação realizada por um grupo de pesquisadores avaliou o efeito da ingestão de chás (verde e hibisco) durante seis meses em jogadores de futebol, e constatou uma diminuição de indicadores de estresse oxidativo (MDA), seguidamente do aumento da capacidade antioxidante total (HADI *et al.*, 2017).

2.4 UVA E DERIVADOS COMO RECURSO ERGOGÊNICO

As uvas têm uma longa e abundante história. Durante as antigas civilizações gregas e romanas, as uvas foram reverenciadas pelo seu uso na vinificação. Hoje em dia, existem três espécies principais de uvas: uvas europeias (*Vitis vinifera*), uvas norte-americanas (*Vitis labrusca* e *Vitis rotundifolia*) e híbridas francesas. O consumo dos derivados da uva tem sido bastante comum e vários produtos, como o suco e vinho tem um valor comercial relevante (WADA *et al.*, 2007).

Quanto a sua composição a uva chama atenção pelo seu rico conteúdo de compostos antioxidantes, abrangendo principalmente antocianinas, flavanóis, flavonóis, estilbenos (resveratrol) e ácidos fenólicos (XIA *et al.*, 2010). Até mesmo o resíduo da uva, na maior parte das vezes descartado pela indústria como parte não utilizável do processo da produção de sucos e vinhos mostrou ter um perfil antioxidante interessante (HAAS *et al.*, 2016, 2017).

Os primeiros estudos avaliando o efeito antioxidante das uvas no estresse oxidativo e com envolvimento do exercício foi justamente adotando-se esta premissa de que o treino intenso prover estresse oxidativo. Dentre eles uma investigação com oferta do suco orgânico da uva roxa em ratos que foram submetidos a um protocolo de treinamento observou diminuição nos marcadores de estresse oxidativo no grupo suplementado quando comparado ao grupo controle (DALLA CORTE *et al.*, 2013). Um outro estudo examinou os efeitos da suplementação de quercetina (flavonoide encontrado na uva) em ratos submetidos a um programa de treinamento e verificou manutenção dos níveis de enzimas antioxidantes tanto no sangue quanto no hipotálamo enquanto o grupo controle apresentou diminuição dos níveis enzimáticos analisados (HALEAGRAHARA *et al.*, 2009).

Nessa perspectiva, estudos com humanos confirmam os efeitos já vistos em modelo animal, mas o volume de estudos ainda é muito incipiente, resumindo-se a dois estudos. Um ensaio com triatletas demonstrou aumento da capacidade antioxidante a ainda aperfeiçoamento no metabolismo da glicose com a ingestão de

300 ml de suco de uva por 20 dia (GONÇALVES *et al.*, 2011). O nosso laboratório, buscando contribuir com essa linha de pesquisa, testou a suplementação de 700ml/dia do suco de uva em atletas corredores e também constatou diminuição de estresse oxidativo e inflamação e melhora na performance esportiva (TOSCANO, L. T., 2015).

Embora o número de estudos em que algum alimento tenha demonstrado algum efeito ergogênico esteja em uma fase de crescimento promissor, até onde sabemos, nenhum deles avaliou o potencial da uva roxa em atenuar os parâmetros de excesso de cargas de treinamento.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo se caracteriza como sendo de base experimental (THOMAS, J.; NELSON, J.; SILVERMAN, 2012).

Foram utilizados 24 ratos machos adultos jovens da linhagem *Wistar (Rattus norvegicus, variedade abinus)*, com 11 a 12 semanas de vida, do biotério da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Eles foram randomizados em três grupos:

- Controle (CON) (não suplementando e sem exercício) n = 8;
- Grupo treinando (EXC) (não suplementado e com exercício) = n = 8
- Grupo exercício suplementado com suco de uva (EXS), n = 8;

Os animais foram mantidos em condições padronizadas quanto a temperatura (22.1° C), iluminação (ciclo claro/escuro, 12/12 horas) e umidade de 55%. Foi ofertada diariamente água (filtrada) e ração ad libitum (labina® Purina). Todos os procedimentos aplicados nos animais tiveram como base as diretrizes da Sociedade Brasileira de ciência em animais de laboratório (SBCAL), visando o bem-estar físico e psicológico dos animais. Este projeto foi aprovado pela comissão de ética no uso animais da universidade federal da Paraíba sob o número 3978270418.

3.1 DESENHO EXPERIMENTAL

A partir da 12ª semana de idade, os animais foram expostos a um protocolo de treinamento físico de corrida em esteira, adaptado de Hohl et al. (2009), de uma semana de adaptação e mais 11 semanas de treinamento regular. Após a semana de adaptação os animais do grupo (EXS) foi suplementado com suco de uva. Testes de performance foram realizados após a semana de adaptação, 4ª e a 8ª e ao no final do protocolo de treinamento. No final do protocolo de treinamento, os ratos de todos os grupos passaram por testes comportamentais e exame de ecocardiograma e foram eutanasiados para posterior análise de estresse oxidativo (MDA), (CAT). Expressão proteica (PI3K, AKT, mTOR, FOXO). Como pode ser visto na figura 1.

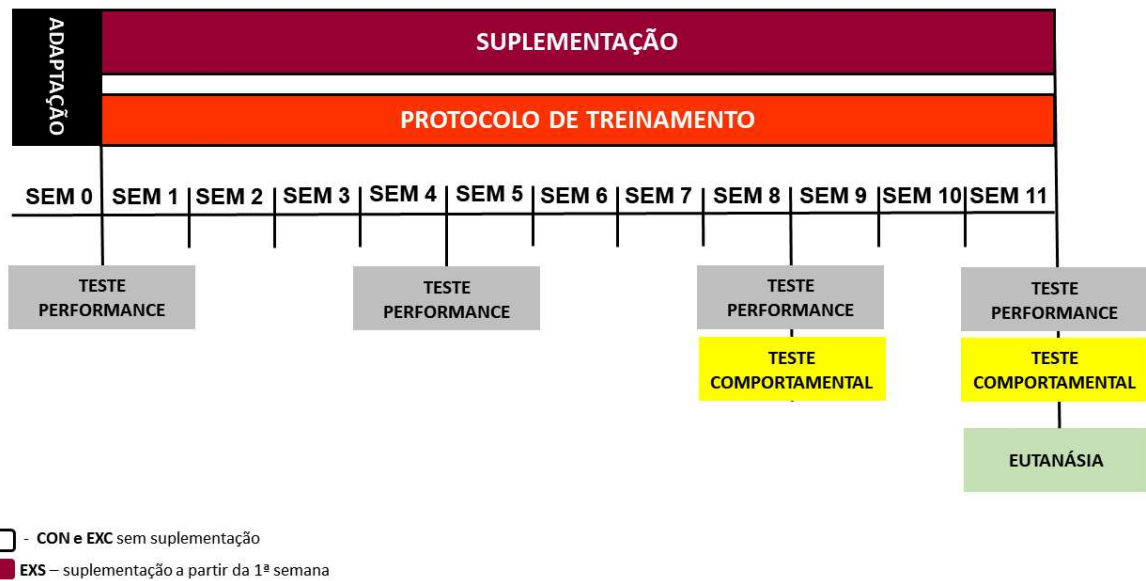


Figura 1 - Desenho experimental do estudo

3.2 PROTOCOLO DE ADAPTAÇÃO

Antes do início do protocolo de treinamento extenuante, os ratos tiveram uma semana de adaptação à gavagem e corrida em esteira. Nesta semana, foi realizada a seleção dos animais aptos ao protocolo de corrida. Para tanto, os animais foram submetidos à corrida durante 10min/dia numa velocidade de 12m/min na semana de adaptação.

3.3 PROTOCOLO DE TREINAMENTO

O protocolo de treinamento adaptado de Hohl *et al.*, (2009) iniciou-se na semana seguinte à adaptação e está apresentado no quadro 1. O treinamento sofreu um aumento gradual na intensidade e duração ao decorrer do protocolo. Além disso, a partir da oitava semana de treinamento os animais passaram a treinar mais de uma vez ao dia, chegando a realizar três sessões diárias de treino.

Quadro 3 – Protocolo de Treinamento. Adaptado de Hohl et al. (2009).

Semana experimental	Velocidade treinamento (m-min)	Tempo de treinamento (min)	Número de sessões diárias	Recuperação entre as sessões (h)
1	15	10	1	24
2	20	15	1	24
3	22,5	30	1	24
4	22,5	45	1	24
5	22,5	60	1	24
6	22,5	60	1	24
7	22,5	75	1	24
8	22,5	75	2	4
9	24,5	75	2	4
10	25	75	2	4
11	25	75	3	2

3.4 TESTES DE PERFORMANCE

Os testes para avaliação da performance foram realizados durante três ocasiões (após o período de adaptação e após a 4^a e 8^a e 11^a semanas de treinamento). Os testes de performance iniciaram com os animais correndo numa esteira sem inclinação com uma velocidade inicial de 15m/min durante cinco minutos. Logo após, a cada 3min a velocidade da esteira foi aumentada em 2m/min até a exaustão. A exaustão foi constatada quando os animais não conseguiram manter a velocidade, mesmo depois de incitados pelos pesquisadores.

3.5 PROTOCOLO DE SUPLEMENTAÇÃO

A solução foi administrada aos animais diariamente no Laboratório de Nutrição Experimental, do Departamento de Nutrição, da Universidade Federal da Paraíba. A suplementação foi iniciada concomitantemente com o início do protocolo de treinamento em dois dos grupos. Os animais foram suplementados via gavagem com

o volume de 3ml/dia da bebida experimental, respeitando a capacidade gástrica dos animais, de 1ml/100g de peso corporal (MCCONNELL; BASIT; MURDAN, 2008).

O suco de uva tinto utilizado foi do tipo tinto integral, produzido pela cooperativa Vinícola Garibaldi (Garibaldi, Serra Gaúcha, Brasil) elaborado a partir as variedades de uvas Isabel, Bordô e Concord. Caracterizado como uma bebida natural, integral (100% fruta), não alcoólica, sem adição de açúcar, água, aromatizante ou conservantes, conforme informações do fabricante.

Segundo os fabricantes, a constituição para 200 mL da bebida (valores diários de referência com base em uma dieta de 2000 kcal) configura-se com 130 kcal e 32 g de carboidratos para o suco de uva. Não contém quantidades significativas de proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras trans, fibras alimentares e sódio.

O conteúdo de antioxidantes do suco de uva foi verificado pela técnica baseada em sequestro de radicais livres usando DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS (ácido sulfônico). Foram encontradas quantidades significativas de compostos antioxidantes, como detalhado abaixo. Enquanto a atividade de fenólicos totais foi verificada de acordo com a técnica de Folin-Ciocateau. A quantificação dos compostos fenólicos (flavanóis, flavonóis, ácidos fenólicos e estilbenos) foi realizada por cromatográfica líquida de alta performance (HPLC). Estas informações estão apresentadas nas tabelas abaixo.

Tabela 1 – Características físico-químicas, compostos fenólicos, coloração, antocianinas, e atividade antioxidante do suco de uva.

Físico-química	
pH	3,2
Teor de sólidos solúveis	14,3°Brix
Densidade	1,06
Acidez titulável	0,80 g.100g ⁻¹
Acidez volátil	0,24 g.100
Teor alcoólico (v/v%)	< 0,5
Compostos fenólicos	
Fenólicos totais (g.L ⁻¹)	3,11
Coloração	
Antocianinas monoméricas totais (mg/L)	-
Intensidade	14,14
Tonalidade	1,55
Atividade Antioxidante	
DPPH (μMol trolox/mL ⁻¹)	13,0
ABTS (μMol trolox/mL ⁻¹)	9,55

Legenda: DPPH - 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl, ABTS ácido sulfônico

Na tabela 2 está apresentada a quantificação dos compostos fenólicos (flavanóis, flavonóis, ácidos fenólicos e antocianinas) nas amostras analisadas por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) (NATIVIDADE et al. 2013). Foram encontrados 21 dos 28 compostos padrões permitidos pelo método validado pela EMBRAPA, Petrolina-PE. De modo que, seis compostos não foram encontrados ou estavam abaixo dos limites de quantificação no suco avaliado. Dentre os quais estão um ácido fenólico, dois flavonols e três antocianinas.

Tabela 2 – Quantificação dos compostos fenólicos em miligramas/litro (mg/L) no suco de uva.

Flavanois (7)		Flavonois (5)	
Catequina	1,40	Caempferol-3-O-glicosídeo	0,52
Epicatequina	1,32	Isorhamnetina-3-O-glicosídeo	0,75
Galato epicatequina	1,0	Isoquercetina	2,30
Galato epigalatocatequina	1,90	Rutina	0,76
Procianida A2	0,75	Miricetina	1,0
Procianidina B1	2,25		
Procianidina B2	4,33		
Ácidos Fenólicos (5)		Estilbenos (4)	
Ácido cafeico	4,04	Trans resveratrol	0,50
Ácido p-cumárico	3,47	Sis-resveratrol	0,31
Ácido caftarico	67,12	Piceatanol	0,56
Ácido clorogênico	8,41	viniferina	0,74
Ácido ferrúlico	0,80		-
			-
			-

3.6 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPÓREA E CONTROLE DO CONSUMO DE RAÇÃO

A massa corpórea dos animais foi verificada duas vezes por semana, no início e fim das semanas de experimento antes das sessões de treinamento, onde foi utilizada a balança analítica (Mettler, Suíça) – precisão: 0,1 g, capacidade máxima: 2610g. O controle do consumo da ração aconteceu nos mesmos dias, pesando-se na mesma balança a sobra da ração, e subtraindo da quantidade que foi estipulada a ser colocada como padrão, obtendo-se o consumo total por gaiola. Posteriormente foi calculada a média de consumo por animal. No dia da eutanásia os animais foram medidos e pesados previamente.

3.7 TESTE DO CAMPO ABERTO

O teste consiste em colocar o animal em aparelho de campo aberto que consiste de uma arena circular metálica (pintada de branco), delimitada por paredes translúcidas com a parte superior aberta. O piso da arena é dividido em 16 campos (com linhas pintadas de preto), sendo 3 círculos concêntricos (15, 34 e 55 cm de diâmetro, respectivamente) que, por sua vez, são subdivididos em um total de 16 segmentos e um círculo central. O campo aberto é um instrumento para testar comportamento de ansiedade e atividade exploratória, a fim de verificar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em ratos (SANTOS, 2008; HALL, 1934).

Os animais foram colocados individualmente no centro da arena para explorar livremente o ambiente durante 5 minutos. Os seguintes parâmetros foram observados: ambulação (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas), número de comportamentos de levantar (*rearing*), tempo de comportamento de autolimpeza (*grooming*) e defecação (número de bolos fecais) (SANTOS, 2008).

3.8 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

O teste consiste em colocar o animal em um labirinto em forma de cruz, elevado do solo, formado por dois braços fechados por paredes e dois abertos (perpendiculares aos primeiros), sendo os parâmetros analisados: a frequência de entradas e o tempo gasto em cada tipo de braço, o tempo na área central e o mergulho de cabeça do animal nos braços abertos. O animal explora os dois tipos de braço, porém entra mais e permanece por mais tempo nos braços fechados. Considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a porcentagem de entradas e de tempo gasto nos braços abertos e vice-versa (HANDLEY; MITHANI, 1984; PELLOW; FILE, 1986).

Dois dias após o teste do campo aberto, os animais foram colocados individualmente no centro do aparelho com o focinho voltado para um dos braços fechados, explorando livremente por 5 minutos. A cada animal testado, o labirinto foi higienizado com álcool a 10%.

3.9 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO VENTRICULAR POR ECOCARDIOGRAMA

Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/kg) e cloridrato de xilidino (1 mg/kg), administrados por via intraperitoneal. Após tricotomia da região anterior do tórax, os animais foram posicionados em decúbito lateral esquerdo e o exame foi realizado com o equipamento modelo Vivid 60 (*GE Healthcare®*) equipado com cinco transdutores eletrônicos. Para avaliar as medidas estruturais do coração foram obtidas imagens em modo monodimensional (modo-M) orientado pelas imagens em modo bidimensional, estando o transdutor em posição para-esternal eixo menor. A avaliação do ventrículo esquerdo (VE) foi realizada posicionando o cursor do modo-M logo abaixo do plano da valva mitral no nível dos músculos papilares (Simone et al., 1992; Litwin et al., 1995; Douglas et al., 1998). As imagens da aorta e do átrio esquerdo foram obtidas posicionando o cursor do modo-M ao nível do plano da valva aórtica. As imagens obtidas em modo-M foram registradas em impressora modelo UP-890 da Sony Co. Posteriormente, as estruturas cardíacas foram medidas, manualmente, com o auxílio de um paquímetro de precisão. A função sistólica do VE foi avaliada pela porcentagem de encurtamento sistólico ($\text{diâmetro diastólico} - \text{diâmetro sistólico} / \text{diâmetro diastólico}$). A função diastólica do VE foi avaliada pela razão entre os picos de velocidade de fluxo de enchimento inicial (onda E) e da contração atrial (onda A) do fluxo transmitral.

3.10 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Passado o período experimental, 48h após o último teste de performance, e em jejum de 12h, os animais foram anestesiados com quetamina (75mg/kg) associado com xilazina (10mg/kg), por via intraperitoneal. Posteriormente foi feita a eutanásia dos animais por exsanguinamento por punção cardíaca, de acordo com os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O sangue foi coletado, após as coletas, os tubos foram acondicionados num recipiente com gelo e levados ao laboratório. Aproximadamente 20 minutos após cada coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante foi colocado em tubos ependorffs e refrigerados a 4° C até a análise. Os órgãos; fígado, cérebro, coração foram armazenados em refrigerador a -20° C e os músculos sóleo/EDL foram coletados e armazenados em ultra freezer com temperatura -80° C.

3.11 HOMOGENEIZAÇÃO DOS TECIDOS

Os órgãos (cérebro e fígado) foram cortados em pedaços pequenos e passados em instrumento para total homogeneização do tecido, utilizando 4mL de Cloreto de potássio a 10% (homogeneizado 1:4). Após isso, as amostras foram colocadas em centrífuga refrigerada a 9000rpm a 4° C por 20 minutos. O sobrenadante foi separado para posterior análise.

3.12 MALONDIALDEÍDO E SULFIDRIL

A peroxidação lipídica foi quantificada pelo malondialdeído –MDA por meio da reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS) com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979). Ao passo que a oxidação de proteínas foi analisada a partir da dosagem de grupamentos SH, de acordo com a metodologia proposta por Ellman. (1979).

3.13 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL, CATALASE, GLUTATIONA TRANSFERASE

Atividade antioxidante: Foi avaliada a partir do método para capacidade antioxidante total (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Para a análise da enzima catalase foi realizada através da conversão do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água seguindo a metodologia proposta por Aebi. (1984). Enquanto para quantificar glutathione transferase utilizou-se a metodologia proposta por Habig W. (1974).

3.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados serão apresentados como média e erro padrão da média. Foi realizado inicialmente o teste de Shapiro-Wilks para testar a normalidade dos dados e diferenças entre os desvios padrões das variáveis. Os dados sendo considerados normais, o teste de Análise de variância (ANOVA) *two way* para medidas repetidas foi adotada para comparar diferenças entre os grupos para as variáveis dependentes do estudo. Foi adotado nível de confiança de 5% para todos os testes. Estes

procedimentos foram realizados no software SPSS 25 (SPSS Inc. Statistics for Windows, Version 25.0. Chicago: SPSS Inc).

REFERENCIAS

- ABBAS MEAMARBASHI; ALI RAJABI. The effects of peppermint on exercise performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 1, 2013. Disponível em: <Journal of the International Society of Sports Nutrition>.
- ALLOUI, K.; ABDELMALEK, S.; CHTOUROU, H.; et al. Effects of time-of-day on oxidative stress, cardiovascular parameters, biochemical markers, and hormonal response following level-1 Yo-Yo intermittent recovery test. **Physiology International**, v. 104, n. 1, p. 77–90, 2017.
- ALVES, R. N.; OLIVEIRA, L.; COSTA, P.; et al. Monitoring and prevention of overtraining in athletes *. v. 12, p. 262–266, 2006.
- ANDERSON, T.; WIDEMAN, L. Exercise and the Cortisol Awakening Response: A Systematic Review. **Sports Medicine - Open**, v. 3, n. 1, p. 37, 2017. Disponível em: <<http://sportsmedicine-open.springeropen.com/articles/10.1186/s40798-017-0102-3>>.
- ANGELINE, A.; M, M.; A, D.; et al. The Overtraining Syndrome in Athletes: A Stress Related Disorder. 2004.
- AUBRY, A.; HAUSSWIRTH, C.; LOUIS, J.; et al. The development of functional overreaching is associated with a faster heart rate recovery in endurance athletes. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–16, 2015a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0139754>>.
- AUBRY, A.; HAUSSWIRTH, C.; LOUIS, J.; et al. The development of functional overreaching is associated with a faster heart rate recovery in endurance athletes. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–16, 2015b.
- BANDYOPADHYAY, A.; BHATTACHARJEE, I. Physiological Perspective of Endurance Overtraining – A Comprehensive Update. **Journal of Medicine (Cincinnati)**, v. 5, n. 1, p. 7–20, 2012.
- BAUMERT, P.; LAKE, M. J.; STEWART, C. E.; et al. **Genetic variation and exercise-induced muscle damage: implications for athletic performance, injury and ageing**. [S.l.]: Springer Berlin Heidelberg, 2016. v. 116.
- BEITER, T.; FRAGASSO, A.; HUDEMANN, J.; et al. Short-term treadmill running as a model for studying cell-free DNA kinetics in vivo. **Clinical Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 633–636, 2011.

- BELLENGER, C. R.; FULLER, J. T.; THOMSON, R. L.; et al. Monitoring Athletic Training Status Through Autonomic Heart Rate Regulation : A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Medicine**, v. 46, n. 10, p. 1461–1486, 2016.
- CADEGIANI, F. A.; KATER, C. E. Hormonal aspects of overtraining syndrome: a systematic review. **BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation**, v. 9, n. 1, p. 14, 2017. Disponível em: <http://bmcsportsscimedrehabil.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13102-017-0079-8>.
- CANO SOKOLOFF, N.; MISRA, M.; ACKERMAN, K. E. Exercise, Training, and the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Men and Women. **Frontiers of Hormone Research**, v. 47, p. 27–43, 2016.
- CARFAGNO, D. G.; HENDRIX, J. C. Overtraining syndrome in the athlete: Current clinical practice. **Current Sports Medicine Reports**, v. 13, n. 1, p. 45–51, 2014.
- CARVALHO-PEIXOTO, J.; MOURA, M.; CUNHA, F.; et al. Consumption of açai (Euterpe Oleracea Martius) functional beverage reduces muscle stress and improves effort tolerance in elite athletes: a randomized controlled intervention study. **Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquée, nutrition et métabolisme**, p. 1–29, 2016.
- CORSETTI, R.; BARASSI, A.; PEREGO, S.; et al. Changes in urinary amino acids excretion in relationship with muscle activity markers over a professional cycling stage race: In search of fatigue markers. **Amino Acids**, v. 48, n. 1, p. 183–192, 2016.
- DAL-ROS, S.; ZOLL, J.; LANG, A. L.; et al. Chronic intake of red wine polyphenols by young rats prevents aging-induced endothelial dysfunction and decline in physical performance: Role of NADPH oxidase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 404, n. 2, p. 743–749, 2011.
- DALLA CORTE, C. L.; DE CARVALHO, N. R.; AMARAL, G. P.; et al. Antioxidant effect of organic purple grape juice on exhaustive exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 5, p. 558–565, 2013. Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/apnm-2012-0230>.
- DONG, J. G. The role of heart rate variability in sports physiology (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 11, n. 5, p. 1531–1536, 2016.
- DUCLOS, M.; TABARIN, A. Exercise and the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis. **Frontiers of Hormone Research**, v. 47, p. 12–26, 2016.

DUPUY, O.; BHERER, L.; AUDIFFREN, M.; et al. Night and postexercise cardiac autonomic control in functional overreaching. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 2, p. 200–208, 2013. Disponível em:

<<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/apnm-2012-0203>>.

FERRARESSO, R. L. P.; BUSCARIOLLI DE OLIVEIRA, R.; MACEDO, D. V.; et al. Interaction between overtraining and the interindividual variability May (Not) trigger muscle oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, 2012.

GHOLAMNEZHAD, Z.; HOSSEIN BOSKABADY, M.; HOSSEINI, M.; et al. Iranian Journal of Basic Medical Sciences Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat. **Iran J Basic Med Sci**, v. 17, n. 11, p. 1–8, 2014.

GILLINOV, S.; ETIWY, M.; WANG, R.; et al. Variable Accuracy of Wearable Heart Rate Monitors during Aerobic Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, n. 19, p. 1, 2017. Disponível em: <<http://insights.ovid.com/crossref?an=00005768-9000000000-97240>>.

GILSON, S. F.; SAUNDERS, M. J.; MORAN, C. W.; et al. Effects of chocolate milk consumption on markers of muscle recovery following soccer training: a randomized cross-over study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 19, 2010. Disponível em: <<http://jissn.biomedcentral.com/articles/10.1186/1550-2783-7-19>>.

GOMEZ-CABRERA, M.; VIÑA, J.; JI, L. Role of Redox Signaling and Inflammation in Skeletal Muscle Adaptations to Training. **Antioxidants**, v. 5, n. 4, p. 48, 2016.

Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-3921/5/4/48>>.

GONÇALVES, M. C.; BEZERRA, F. F.; ELEUTHERIO, E. C. DE A.; et al. Organic grape juice intake improves functional capillary density and postocclusive reactive hyperemia in triathletes. **Clinics**, v. 66, n. 9, p. 1537–1541, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322011000900005&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

HAAS, I. C. DA S.; TOALDO, I. M.; M?LLER, C. M. O.; et al. Modeling of drying kinetics of the non-pomace residue of red grape (*V. labrusca* L.) juices: Effect on the microstructure and bioactive anthocyanins. **Journal of Food Process Engineering**, n. March, p. e12568, 2017. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.1111/jfpe.12568>>.

HAAS, I. C. DA S.; TOALDO, I. M.; DE GOIS, J. S.; et al. Phytochemicals, Monosaccharides and Elemental Composition of the Non-Pomace Constituent of Organic and Conventional Grape Juices (*Vitis labrusca* L.): Effect of Drying on the Bioactive Content. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 71, n. 4, p. 422–428, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11130-016-0579-9>>.

HADI, A.; POURMASOUMI, M.; KAFESHANI, M.; et al. The Effect of Green Tea and Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) Supplementation on Oxidative Stress and Muscle Damage in Athletes. **Journal of Dietary Supplements**, v. 14, n. 3, p. 346–357, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/19390211.2016.1237400>>.

HALEAGRAHARA, N.; RADHAKRISHNAN, A.; LEE, N.; et al. Flavonoid quercetin protects against swimming stress-induced changes in oxidative biomarkers in the hypothalamus of rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 621, n. 1–3, p. 46–52, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.08.030>>.

HALSON, S. L. Monitoring Training Load to Understand Fatigue in Athletes. v. 44, 2014.

HALSON, S. L.; JEUKENDRUP, A. E. Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. **Sports Medicine**, v. 34, n. 14, p. 967–981, 2004.

HARMS-RINGDAHL, M.; JENSSEN, D.; HAGHDOOST, S. Tomato juice intake suppressed serum concentration of 8-oxodG after extensive physical activity. **Nutrition Journal**, v. 11, n. 1, p. 29, 2012. Disponível em: <Nutrition Journal>.

HAYES, L. D.; GRACE, F. M.; BAKER, J. S.; et al. Exercise-Induced Responses in Salivary Testosterone, Cortisol, and Their Ratios in Men: A Meta-Analysis. **Sports Medicine**, v. 45, n. 5, p. 713–726, 2015.

HOHL, R.; FERRARESSO, R. L. P.; DE OLIVEIRA, R. B.; et al. Development and characterization of an overtraining animal model. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 5, p. 1155–1163, 2009.

HOTTENROTT, K.; HOOS, O.; ESPERER, H. D. Herzfrequenzvariabilität und sport. Aktueller stand. **Herz**, v. 31, n. 6, p. 544–552, 2006.

HUANG, W. C.; CHIU, W. C.; CHUANG, H. L.; et al. Effect of curcumin supplementation on physiological fatigue and physical performance in mice. **Nutrients**, v. 7, n. 2, p. 905–921, 2015.

HUGHES, D. C.; ELLEFSEN, S.; BAAR, K. Adaptations to Endurance and Strength

Training. p. 1–18, 2017.

KAJAIA, T.; MASKHULIA, L.; CHELIDZE, K.; et al. the Effects of Non-Functional Overreaching and Overtraining on Autonomic Nervous System Function in Highly Trained Athletes. **Georgian medical news**, n. 264, p. 97–103, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28480859>>.

KARP, J. R.; JOHNSTON, J. D. Chocolate milk as a post -exercise recovery aid. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 16, n. 23, p. 78–91, 2006.

KAWAMURA, T.; MURAOKA, I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. **Antioxidants**, v. 7, n. 9, p. 119, 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-3921/7/9/119>>.

KIVINIEMI, A. M.; TULPPO, M. P.; HAUTALA, A. J.; et al. Altered relationship between R-R interval and R-R interval variability in endurance athletes with overtraining syndrome. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 24, n. 2, p. 77–85, 2014.

KREHER, J. B.; SCHWARTZ, J. B. Overtraining Syndrome: A Practical Guide. **Sports Health: A Multidisciplinary Approach**, v. 4, n. 2, p. 128–138, 2012. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1941738111434406>>.

KREIDER, R. B.; WILBORN, C. D.; TAYLOR, L.; et al. ISSN Exercise & Sport Nutrition Review: Research & Recommendations. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 15, p. 57, 2018.

KUBOTA, Y.; CHEN, L. Y.; WHITSEL, E. A.; et al. Heart rate variability and lifetime risk of cardiovascular disease: the Atherosclerosis Risk in Communities Study.

Annals of Epidemiology, 2017. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S104727971730515X>>.

LAFAY, S.; JAN, C.; NARDON, K.; et al. Grape extract improves antioxidant status and physical performance in elite male athletes. **Journal of sports science & medicine**, v. 8, n. 3, p. 468–80, 2009. Disponível em:

<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3763295&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

LEIFERT, W. R.; ABEYWARDENA, M. Y. Cardioprotective actions of grape polyphenols. **Nutrition Research**, v. 28, n. 11, p. 729–737, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0271531708001917>>.

LUNN, W. R.; PASIAKOS, S. M.; COLLETTTO, M. R.; et al. Chocolate milk and

endurance exercise recovery: Protein balance, glycogen, and performance.

Medicine and Science in Sports and Exercise, v. 44, n. 4, p. 682–691, 2012.

MACKINNON, L. T. Overtraining effects on immunity and performance in athletes.

Immunology and Cell Biology, v. 78, n. 5, p. 502–509, 2000. Disponível em:

<<http://www.nature.com/doifinder/10.1111/j.1440-1711.2000.t01-7-.x>>.

MAGAL, M.; DUMKE, C. L.; URBIZTONDO, Z. G.; et al. Relationship between serum creatine kinase activity following exercise-induced muscle damage and muscle fibre composition. **Journal of Sports Sciences**, v. 28, n. 3, p. 257–266, 2010.

MAIN, L. C.; DAWSON, B.; HEEL, K.; et al. Relationship between inflammatory cytokines and self-report measures of training overload. **Research in sports medicine**, v. 18, n. 2, p. 127–139, 2010. Disponível em:

<<http://hdl.handle.net/10536/DRO/DU:30031231%5Cnhttp://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713926139%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1080/15438621003627133%5Cnhttp://www.informaworld.com/>>.

MARGONIS, K.; FATOUROS, I. G.; JAMURTAS, A. Z.; et al. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: Implications for diagnosis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, n. 6, p. 901–910, 2007.

MARIN, D. P.; BOLIN, A. P.; CAMPOIO, T. R.; et al. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: Implications for sport training monitoring.

International Immunopharmacology, v. 17, n. 2, p. 462–470, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2013.07.009>>.

MAURÍCIO GATTÁS BARA FILHO; NOGUEIRA, R. A.; ANDRADE, F. C. DE J. L. F.; et al. Adaptação e validação da versão brasileira do questionário de overtraining. **HU Revista**, p. 47–53, 2010.

MCCONNELL, E. L.; BASIT, A. W.; MURDAN, S. Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH , fluid and lymphoid tissue , and implications for in-vivo experiments. p. 63–70, 2008.

MCLEAY, Y.; STANNARD, S.; HOULTHAM, S.; et al. Dietary thiols in exercise: oxidative stress defence, exercise performance, and adaptation. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 12, 2017. Disponível em: <<http://jissn.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12970-017-0168-9>>.

MEEUSEN, R.; PIACENTINI, M. F.; BUSSCHAERT, B.; et al. Hormonal responses in athletes: The use of a two bout exercise protocol to detect subtle differences in (over)training status. **European Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 2–3, p.

140–146, 2004.

MEEUSEN, ROMAIN; WATSON, P.; HASEGAWA, H.; et al. Brain neurotransmitters in fatigue and overtraining. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 32, n. 5, p. 857–864, 2007. Disponível em:

<<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/H07-080>>.

MEEUSEN, ROMAIN; DUCLOS, M.; FOSTER, C.; et al. Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: Joint consensus statement of the european college of sport science and the American College of Sports Medicine. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 45, n. 1, p. 186–205, 2013.

MINEGISHI, Y.; HARAMIZU, S.; HASE, T.; et al. Red grape leaf extract improves endurance capacity by facilitating fatty acid utilization in skeletal muscle in mice.

European Journal of Applied Physiology, v. 111, n. 9, p. 1983–1989, 2011.

MOUROT, L.; BOUHADDI, M.; PERREY, S.; et al. Decrease in heart rate variability with overtraining: assessment by the Poincaré plot analysis. **Clinical physiology and functional imaging**, v. 24, n. 1, p. 10–18, 2004.

MUJKA, I. Quantification of Training and Competition Loads in Endurance Sports : Methods and Applications. p. 9–17, 2017.

MUJKA, I. Quantification of training and competition loads in endurance sports: methods and applications. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 32, p. 1–44, 2011.

NADERI, A.; REZAEI, S.; MOUSSA, A.; et al. Fruit for sport. **Trends in Food Science and Technology**, v. 74, p. 85–98, 2018.

OWENS, D. J.; TWIST, C.; COBLEY, J. N.; et al. Exercise-induced muscle damage: What is it, what causes it and what are the nutritional solutions? **European Journal of Sport Science**, v. 0, n. 0, p. 1–15, 2018. Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17461391.2018.1505957>>.

PAULSEN, G.; MIKKELSEN, U. R.; RAASTAD, T.; et al. Leucocytes, cytokines and satellite cells: What role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? **Exercise Immunology Review**, v. 18, p. 42–97, 2012.

PEDERSEN, B. K. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 47, n. 8, p. 600–611, 2017.

PEREIRA, B.; PAULI, J.; ANTUNES, L. M.; et al. Overtraining is associated with DNA damage in blood and skeletal muscle cells of Swiss mice. **BMC Physiology**, v. 13, n.

1, p. 11, 2013. Disponível em:

<<http://bmcpophysiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6793-13-11>>.

PEREIRA, B. C.; DA ROCHA, A. L.; PAULI, J. R.; et al. Excessive eccentric exercise leads to transitory hypothalamic inflammation, which may contribute to the low body weight gain and food intake in overtrained mice. **Neuroscience**, v. 311, n. October, p. 231–242, 2015. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.10.027>>.

PLEWS, D. J.; SCOTT, B.; ALTINI, M.; et al. Note : This article will be published in a forthcoming issue of the Journal of Physical Activity & Health . This article appears here in its accepted , peer-reviewed form ; it has not been copy edited , proofed , or formatted by the publisher . Psychosoci. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 32, p. 1–44, 2017.

PLEWS, D. J.; LAURSEN, P. B.; STANLEY, J.; et al. Training adaptation and heart rate variability in elite endurance athletes: Opening the door to effective monitoring. **Sports Medicine**, v. 43, n. 9, p. 773–781, 2013.

POWERS, S. K.; SOLLANEK, K. J.; WIGGS, M. P.; et al. Exercise-induced improvements in myocardial antioxidant capacity : the antioxidant players and cardioprotection. v. 48, n. August 2013, p. 43–51, 2014.

RADAK, Z.; ZHAO, Z.; KOLTAI, E.; et al. Oxygen Consumption and Usage During Physical Exercise: The Balance Between Oxidative Stress and ROS-Dependent Adaptive Signaling. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 10, p. 1208–1246, 2013. Disponível em: <<http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2011.4498>>.

ROHLFS, I. C. P.; DE MARA, L. S.; DE LIMA, W. C.; et al. Relationship of the overtraining syndrome with stress, fatigue, and serotonin. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, p. 367–372, 2005.

SAFARINEJAD, M. R.; AZMA, K.; KOLAH, A. A. The Effects of intensive, long-term treadmill running on reproductive hormones, hypothalamus-pituitary-testis axis, and semen quality: A randomized controlled study. **Journal of Endocrinology**, v. 200, n. 3, p. 259–271, 2009.

SCHMIKLI, S. L.; BRINK, M. S.; VRIES, W. R. DE; et al. Can we detect non-functional overreaching in young elite soccer players and middle-long distance runners using field performance tests ? p. 631–636, 2011.

SCHMITT, L.; REGNARD, J.; PARMENTIER, A. L.; et al. Typology of Fatigue by Heart Rate Variability Analysis in Elite Nordic-skiers. **International Journal of**

Sports Medicine, v. 36, n. 12, p. 999–1007, 2015.

SCHWELLNUS, M.; SOLIGARD, T.; ALONSO, J.; et al. How much is too much ? (Part 2) International Olympic Committee consensus statement on load in sport and risk of illness. n. Part 2, p. 1043–1052, 2016.

SELYE, H. STRESS AND THE GENERAL ADAPTATION SYNDROME. 1950.

SILVA-E-OLIVEIRA, J.; AMÉLIO, P. M.; ABRANCHES, I. L. L.; et al. Heart rate variability based on risk stratification for type 2 diabetes mellitus. **Einstein (São Paulo)**, v. 15, n. 2, p. 141–147, 2017.

SILVA, F. O. C. DA; MACEDO, D. V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 4, p. 320–328, 2011.

SMITH, D. J. A Framework for Understanding the Training Process Leading to Elite Performance. **Sports Medicine**, v. 33, n. 15, p. 1103–1126, 2003.

SMITH, L. L. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? **Medicine and science in sports and exercise**, v. 32, n. 2, p. 317–31, 2000.

SMITH, L. L. Overtraining, excessive exercise, and altered immunity: Is this a T helper-1 versus T helper-2 lymphocyte response? **Sports Medicine**, v. 33, n. 5, p. 347–364, 2003.

STANOJEVIC, D.; JAKOVLJEVIC, V.; BARUDZIC, N.; et al. Overtraining does not induce oxidative stress and inflammation in blood and heart of rats. **Physiological Research**, v. 65, n. 1, p. 81–90, 2016.

STONE, M.; PLISK, S.; COLLINS, D. Strength and conditioning Training Principles : Evaluation of Modes and Methods of Resistance Training - A Coaching Perspective. **Sports Biomechanics**, n. October 2014, p. 37–41, 2007.

STRÜDER, H. K. The serotonergic system: Implications for overtraining and exercise-induced eating disorders. **European Journal of Sport Science**, v. 3, n. 1, p. 1–21, 2003.

TANSKANEN, M.; ATALAY, M.; UUSITALO, A. Altered oxidative stress in overtrained athletes. **Journal of Sports Sciences**, v. 28, n. 3, p. 309–317, 2010.

TANSKANEN, M. M.; KYROLAINEN, H.; UUSITALO, A. L.; et al. Serum Sex Hormone-Binding Globulin and Cortisol Concentrations Are Associated With Overreaching During Strenuous Military Training. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, n. 3, p. 787–797, 2011.

- TARTIBIAN, B.; MALEKI, B. H. The Effects of Honey Supplementation on Seminal Plasma Cytokines, Oxidative Stress Biomarkers, and Antioxidants During 8 Weeks of Intensive Cycling Training. **Journal of Andrology**, v. 33, n. 3, p. 449–461, 2012.
- THOMAS, J.; NELSON, J.; SILVERMAN, S. **THOMAS, J.; NELSON, J.; SILVERMAN, S. Métodos de pesquisa em atividade física. Porto Alegre: Artmed, 2012. 6º ed.** 6. ed. Porto Alegre: [s.n.], 2012.
- TIAN, Y.; HE, Z.; ZHAO, J.; et al. Heart Rate Variability Threshold Values for Early-Warning Nonfunctional Overreaching in Elite Female Wrestlers. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 27, n. 6, p. 1511–1519, 2013.
- TOSCANO, L.; TAVARES, R.; TOSCANO, L.; et al. Potential Ergogenic Activity of Grape Juice in Runners. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2015.
- TOSCANO, L. T. Efeitos da suplementação de suco de uva sobre estresse oxidativo, inflamação, imunocompetência, desgaste muscular e desempenho de corredores recreacionais. 2015.
- TOVAR-Y-ROMO, L. B. Neuroinflammation and physical exercise as modulators of adult hippocampal neural precursor cell behavior. p. 1–20, 2017.
- TSITSIMPIKOU, C.; KIOUKIA-FOUGIA, N.; TSAROUHAS, K.; et al. Administration of tomato juice ameliorates lactate dehydrogenase and creatinine kinase responses to anaerobic training. **Food and Chemical Toxicology**, v. 61, p. 9–13, 2013.
- TUBINO, M. **Metodologia Científica do Treinamento Desportivo**. 13ª ed. [S.l.: s.n.], 2003.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.
- WEINECK. **Manual de treinamento esportivo**. [S.l.: s.n.], 1989.
- XIAO, W.; CHEN, P.; DONG, J. Effects of Overtraining on Skeletal Muscle Growth and Gene Expression. p. 846–853, 2012.
- YIN, L.; WANG, Q.; WANG, X.; et al. Effects of *Tribulus terrestris* saponins on exercise performance in overtraining rats and the underlying mechanisms. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 94, n. 11, p. 1193–1201, 2016.
- Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/cjpp-2016-0086>>.
- YOUSSEF, S. BEN; BRISSON, G.; DOUCET-BEAUPRÉ, H.; et al. Neuroprotective benefits of grape seed and skin extract in a mouse model of Parkinson ' s disease.

Nutritional Neuroscience, v. 0, n. 0, p. 1–15, 2019. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1080/1028415X.2019.1616435>>.

APÊNDICE A – ARTIGO I

ARTIGO

**SUCO DE UVA IMPEDE A ESTAGNAÇÃO DO
DESEMPENHO FÍSICO (OVERREACHING) DE RATOS
WISTAR SUBMETIDOS A TREINAMENTO EXTENUANTE**

Frontiers in Physiology

ISSN:1664-042x

Qualis: A1 na área de Nutrição (ANO BASE 2019)

Fator de Impacto:3.201

Suco de uva impede a estagnação do desempenho físico (overreaching) de ratos Wistar submetidos a treinamento extenuante

Matheus da Silveira costa, Mateus Duarte Ribeiro, Eder Jackson Bezerra de Almeida Filho, Victor Augusto Mathias Dorand, Eduardo Amorim, Reabias de Andrade Pereira, Jailane Aquino, João Lucas Penteado Gomes, Edilamar Menezes de Oliveira, Alexandre Sérgio Silva

Resumo

Por treinarem no limite máximo das cargas de treino, atletas convivem com o risco de sofrerem perturbações fisiológicas, incluindo o desenvolvimento de estresse oxidativo. Enquanto isso, a uva roxa é reconhecida por sua capacidade antioxidante. O objetivo deste estudo foi testar a influência do suco da uva roxa na evolução da performance de ratos submetidos a um protocolo treinamento extenuante. Quinze ratos wistar machos foram distribuídos em grupos controle (CON), exercício (EXC) e exercício suplementado (EXS). Os animais que seriam treinados executaram um protocolo de treinamento de 11 semanas (uma sessão diária até a 7ª semana e até 3 sessões diárias da 8ª a 11ª semana). Foram avaliados quanto a performance (teste de corrida até exaustão), indicadores de estresse oxidativo e testes de comportamento. Na 8ª semana, EXS melhorou em $206 \pm 62\%$ em relação ao pré treino, enquanto EXC teve ganho de 136 ± 98 ($p=0,31$ effect size= $0,96$). Da 8ª para 11ª semana, o grupo EXS teve ganho adicional de $20 \pm 11\%$ do desempenho, enquanto o grupo EXC estagnou com apenas $0,2\%$ de ganho; $p=0,82$; effect size = $2,01$). As variáveis de estresse oxidativo malondialdeído e a capacidade antioxidante total se comportaram de forma similar, assim como a ansiedade não diferiu entre os grupos. Conclui-se que a suplementação do suco de uva preveniu uma estagnação do desempenho perante cargas excessivas de treino, mas que esta melhora não é mediada pela atenuação de indicadores de estresse oxidativo e fatores comportamentais.

INTRODUÇÃO

Atletas treinam buscando explorar ao máximo as suas capacidades físicas. Entretanto, o desequilíbrio entre carga de treino, recuperação e fatores nutricionais pode ocasionar estagnação ou declínio da performance (CARFAGNO; HENDRIX, 2014). Este fenômeno normalmente é acompanhado de perturbações comportamentais (ansiedade, perturbação do estado de humor, redução do apetite), fisiológicas (aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca, perda de massa e força muscular), endócrinas (diminuição dos níveis de testosterona e aumento de cortisol) e imunológicas (aumento do número de células de defesa, maior suscetibilidade a doenças) (ALVES *et al.*, 2006; KREHER; SCHWARTZ, 2012).

O sistema de defesa antioxidante também pode estar perturbado em caso cargas de treino/recuperação inadequados (MARIN *et al.*, 2013). Embora a prática de exercício leve a moderado promova um aperfeiçoamento do sistema redox (POWERS *et al.*, 2014), tem sido demonstrado que o treinamento intenso e o descanso inadequado aumentam sobremaneira a produção de espécies reativas de oxigênio, suplantando o sistema de defesa endógeno, ocasionando a queda do desempenho e contribuindo para deterioração da condição física e psicológica do atleta (MARGONIS *et al.*, 2007; TANSKANEN, M.; ATALAY; UUSITALO, 2010).

Enquanto o estresse oxidativo é um efeito deletério ocasionado por cargas de treino/recuperação inadequados, a uva tem demonstrado uma potencial capacidade antioxidante e anti-inflamatória em condições *in vitro* (YOUSSEF *et al.*, 2019) e em pessoas com doenças associadas ao estresse oxidativo, como as enfermidades cardiovasculares (LEIFERT; ABEYWARDENA, 2008). Enquanto isso, alguns pesquisadores induziram estresse oxidativo em animais com protocolos de treinamento e demonstraram que o suco orgânico da uva roxa (DALLA CORTE *et al.*, 2013) e a quercetina (HALEAGRAHARA *et al.*, 2009) minimizaram este efeito.

No contexto esportivo, foi demonstrado que os polifenóis extraídos do vinho tinto exerceram efeito ergogênico, melhorando a capacidade física de ratos e atenuando indicadores de estresse oxidativo. (DAL-ROS *et al.*, 2011; MINEGISHI *et al.*, 2011). Em humanos, a suplementação do suco de uva por 28 dias foi capaz de atenuar indicadores de estresse oxidativo e aprimorar o desempenho de corredores

(TOSCANO, L. *et al.*, 2015). Além disso, a ingestão do extrato da uva durante 30 dias promoveu melhora da performance de atletas de *handball* acompanhada de diminuição de estresse oxidativo (Lafay et al. 2009).

A despeito desses interessantes dados, uma possível proteção do suco de uva contra o estresse oxidativo e a deterioração do desempenho em condições de cargas de treino excessivas ainda não foi verificada, mesmo considerando que o estresse oxidativo participa da etiologia da estagnação ou declínio do desempenho em atletas expostos inadequado balanço entre cargas de treino e recuperação. Desse modo, objetivo deste estudo foi testar o efeito da suplementação do suco de uva tinto administrado em ratos expostos a um protocolo de treinamento desenvolvido para promover *overtraining*, avaliando indicadores de performance (desempenho em teste específico corrida até a exaustão), de estresse oxidativo (malondialdeído, capacidade antioxidante total), e testes comportamentais (teste em cruz elevada e campo aberto).

METODOLOGIA

Animais: Ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com 11 a 12 semanas de idade, inicialmente com 337 ± 39 g obtidos no biotério central da Universidade Federal de Pernambuco, foram alojados em caixas com 4 animais. Os animais foram mantidos em condições padrões de luz (ciclo claro/escuro 12 h/12 horas), temperatura (22 ± 1 ° C) e umidade (65%). Água e ração foram ofertadas ad libitum. Todos os procedimentos aplicados nos animais tiveram como base as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, visando o bem-estar físico e psicológico dos animais (COBEA). Este projeto foi aprovado pela comissão de ética no uso animais da universidade federal da Paraíba sob o número 3978270418.

Desenho experimental: Os animais foram aleatoriamente divididos em três grupos; experimental (EXS), que era ofertado com suco de uva e foi submetido ao protocolo de treinamento extenuante, controle ativo (EXC) submetido ao protocolo de overtraining sem suplementação, e controle sedentário (CON) que não sofria nenhuma intervenção. O protocolo de treinamento físico dos grupos EXS e EXC foi adaptado de Hohl et al. (2009), destinado a promover overtraining. Testes de performance em corrida foram realizados após a semana de adaptação, 4^a, 8^a

semanas e ao final do protocolo experimental. No final do protocolo de treinamento, os animais passaram por testes comportamentais e depois foram sacrificados para posterior análise de estresse oxidativo (MDA), (CAT), (SOD).

Protocolo de adaptação: Antes do início do protocolo de exercícios para indução de overtraining, os ratos passaram por uma semana de adaptação à gavagem e corrida em esteira. Deste modo, os animais foram submetidos à corrida durante 10min/dia numa velocidade de 12m/min, evoluindo para 60 minutos /dia na semana de adaptação.

Protocolo de suplementação: Na semana que antecedeu o início do protocolo experimental foi feita uma adaptação ao procedimento de gavagem, em que, ofertou-se uma quantidade de 2ml de água. Considerando a capacidade gástrica de 3ml, os animais foram suplementados com este volume durante o protocolo experimental. O suco oferecido foi da marca Garibaldi, e a oferta aconteceu sempre no momento pós treino. Os animais do grupo controle receberam a mesma dose de água.

A bebida experimental utilizada para a suplementação foi o suco de uva roxo da Cooperativa Vinícola Garibaldi (Garibaldi, Serra Gaúcha, Brasil) produzido a partir de uvas das variedades Isabel, Bordeaux e Concord (*Vitis labrusca*). Este produto foi caracterizado como uma bebida natural, integral (100% de fruta), não alcoólica, sem adição de açúcar, água, aromatizantes ou conservantes, de acordo com as informações do fabricante.

A suplementação iniciou-se concomitantemente com o início do protocolo de treinamento, sendo administrado 3 ml de suco uva (Garibaldi, Serra Gaúcha), de acordo com a capacidade gástrica dos animais) (MCCONNELL; BASIT; MURDAN, 2008). As soluções foram administradas aos animais diariamente no Laboratório. Os outros dois grupos controle foram gavados com água filtrada, para garantir que todos animais fossem submetidos a todos os procedimentos.

Protocolo de treinamento: Os animais realizaram um período de adaptação com sessões diárias de treino físico em esteira por 5 dias, com duração de 10 minutos por sessão, com velocidade da esteira a 15m/min. Assim, eles foram avaliados diariamente segundo a escala descrita por Lira et al. (2010). De acordo com os seguintes critérios: 1) refuta à corrida; 2) abaixo do corredor médio (corre e para; corre

na direção errada); 3) corredor médio; 4) acima do corredor médio (corre constantemente, ocasionalmente correndo abaixo da velocidade da esteira); 5) bom corredor (consistentemente acima da velocidade da esteira).

O protocolo de treinamento foi iniciado na semana seguinte à adaptação e está apresentado no quadro 1. O treinamento iniciou com 10 minutos de treino a uma velocidade de 15m/min e sofreu um aumento gradual na intensidade e duração para até 75min e na velocidade para 22,5m/min na 7ª semana. A partir da oitava semana, ocorreu um aumento expressivo nas cargas de treino, de modo que os animais passaram a realizar duas sessões diárias (8ª até a 10ª semana) e três sessões diárias (11ª semana), com volume de 75 minutos e intensidade de 25m/min.

Quadro 1. Protocolo de treinamento

Semana experimental	Velocidade (m-min)	Tempo (min)	Sessões diárias	Recuperação entre as sessões (h)
1	15	10	1	24
2	20	15	1	24
3	22,5	30	1	24
4	22,5	45	1	24
5	22,5	60	1	24
6	22,5	60	1	24
7	22,5	75	1	24
8	22,5	75	2	4
9	24,5	75	2	4
10	25	75	2	4
11	25	75	3	2

Testes de performance: Os testes para avaliação da performance foram realizados durante três ocasiões (após o período de adaptação e após a 4ª e 8ª e 11ª semanas de treinamento). Os testes de performance iniciaram com os animais correndo numa esteira sem inclinação com uma velocidade inicial de 15m/min durante cinco minutos. Logo após, a cada 3min a velocidade aumentou em 2m/min até a exaustão. A

exaustão foi constatada quando os animais não conseguiram manter a velocidade, mesmo depois de incitados três vezes pelos pesquisadores.

Teste do campo aberto: Esse teste comportamental foi realizado 24 horas após o teste de desempenho. Os animais foram colocados individualmente no centro da arena para explorar livremente o ambiente durante 5 minutos. Os seguintes parâmetros foram observados: ambulação (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas), número de comportamentos de levantar (*rearing*), tempo de comportamento de autolimpeza (*grooming*) e defecação (número de bolos fecais) (SANTOS, 2008).

Teste do labirinto em cruz elevado: Um dia após o teste do campo aberto, os animais foram colocados individualmente no centro do aparelho com o focinho voltado para um dos braços fechados, onde exploraram livremente por 5 minutos. A cada animal testado, o labirinto foi higienizado com álcool a 10%.

Eutanásia e preparo das amostras e tecidos: Passado o período experimental, 48h após o último teste de performance, e em jejum de 12h, os animais foram anestesiados com quetamina (75mg/kg) associado com xilazina (10mg/kg), por via intraperitoneal. Posteriormente os animais foram sacrificados por exsanguinamento por punção cardíaca, de acordo com as diretrizes da Sociedade Brasileira de ciência em animais de laboratório (SBCAL). O sangue foi coletado e após isso os tubos foram acondicionados em recipiente com gelo. Aproximadamente 20 minutos após cada coleta, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm (1057 g) por 15 minutos e o sobrenadante colocado em tubos ependorffs e refrigerados a 4° C até a análise. Os órgãos; fígado, cérebro, coração e os músculos solear/EDL foram coletados.

Malondialdeído: A peroxidação lipídica foi quantificada pelo malondialdeído –MDA por meio da reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS) com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

Capacidade antioxidante total: Atividade antioxidante: será avaliada a partir do método para capacidade antioxidante total (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

RESULTADOS

Caracterização dos animais: Os animais dos três grupos apresentaram ingestão alimentar e peso corporal similares entre si, no início do experimento (tabela 1). Considerando que os animais dos grupos experimental e controle ativo haviam feito cinco dias de adaptação antes do teste de desempenho realizado imediatamente antes do início dos procedimentos experimentais, estes grupos apresentaram resultados significativamente maiores em relação ao grupo controle sedentário. Entretanto, entre o desempenho dos grupos experimental e controle ativo, não se encontrou diferença estatística.

Inicialmente os animais tinha características semelhantes quanto a massa corporal (CON=353±8g; EXS=306±23g; EXC=352±54g: p=089) e ingestão alimentar (CON=284±8g; EXS=275±31g; EXC=308±40g: p=089), entretanto, quando analisado o resultado do primeiro teste de desempenho foi percebido que o grupo CON (6±2min) teve desempenho inferior ao grupo EXS (14±3min), isso pode ser atribuído ao fato do grupo CON não ter sido submetido a semana de adaptação.

Como pode ser visto na figura 1 (painel A), enquanto o peso dos animais do grupo CON teve um aumento progressivo durante o período experimental, os animais dos grupos experimentais (EXC e EXS) apresentaram ganho de peso somente até a quarta, após a qual sofreram discreta perda de peso na sexta semana e manutenção deste peso até o final do experimento. Não foram notadas diferenças estatísticas entre os grupos treinados (EXC e EXS), com ou sem suplementação. Esse comportamento do peso corporal ocorreu diante de um comportamento nutricional bastante semelhante entre os três grupos ao longo das 11 semanas experimentais (figura 2, painel B)

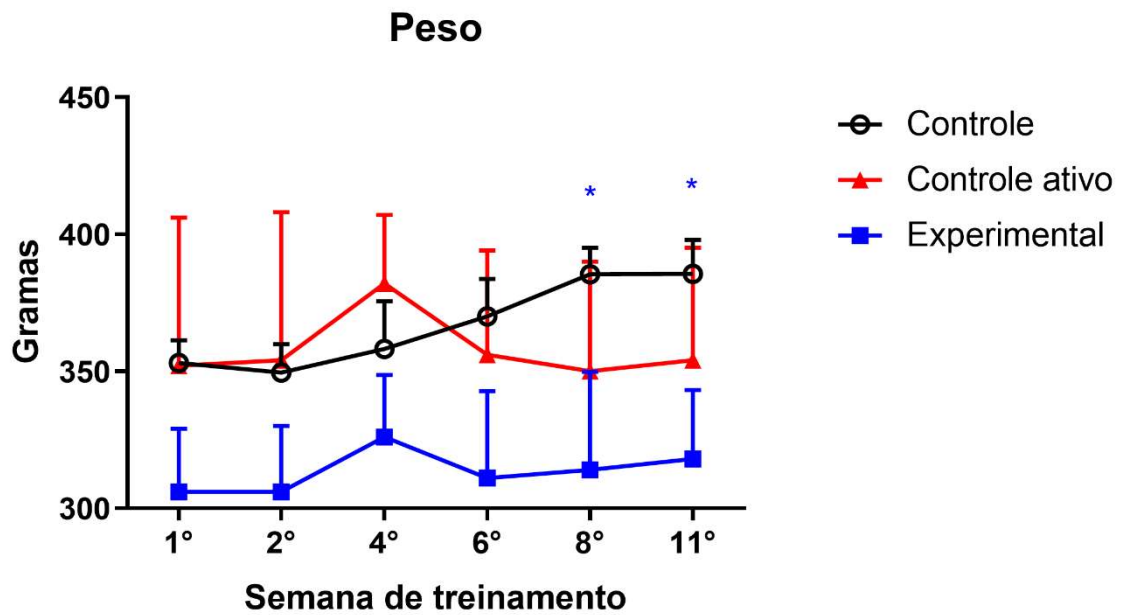
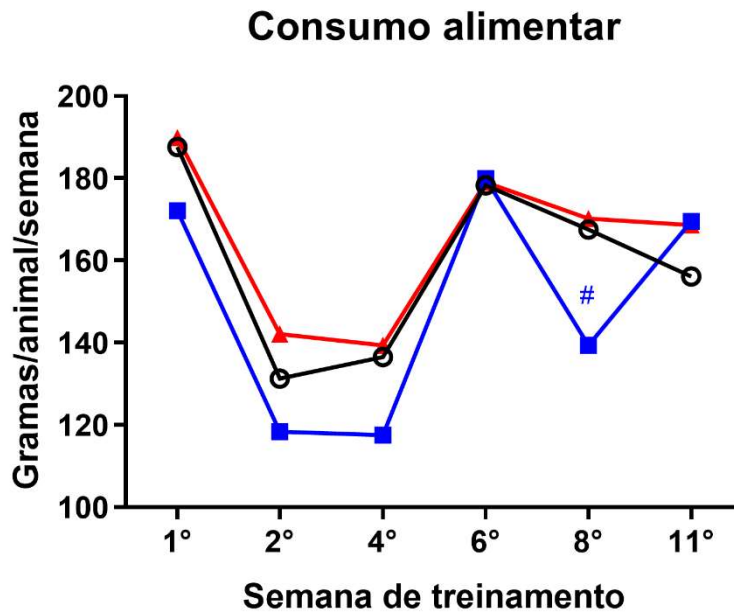
A**B**

figura 1. Massa corporal (painel A) e consumo alimentar (painel B) no decorrer do protocolo experimental. Os dados estão apresentados como média e erro padrão da média. Grupo controle (n=5), grupo exercício suplementado (n=5), exercício (n=5). C indica diferença ($p<0,05$) do grupo controle para o grupo experimental na 8ª e 11ª semanas e # indica diferença da ingestão alimentar do grupo controle na 11ª semana em relação, de acordo com o teste ANOVA *two way*.

A figura 2 mostra a evolução da performance física dos animais ao longo do protocolo de treinamento através dos quatro testes de desempenho físico. Tomando como referência o teste realizado antes do início do protocolo de treinamento, na quarta semana de experimento, quando realizada análise estatística não foi observada diferença entre os grupos EXS e EXC. Os animais do grupo EXS apresentaram $80 \pm 64\%$ de melhora no teste de desempenho, enquanto o grupo EXC obteve apenas $25 \pm 8\%$ de melhora; isto representou um *effect size* considerado muito grande ($d = 1,33$). Enquanto isso, os animais do grupo controle sedentário apresentaram decréscimo na performance de $24 \pm 19\%$. Na 8ª semana de treinamento, os animais do grupo experimental haviam aumentado o desempenho em $206 \pm 62\%$ em relação ao teste pré experimental enquanto o grupo controle ativo melhorou apenas $136 \pm 98\%$. Esta diferença de ganho entre os grupos EXS e EXC representou um *effect size* considerado grande ($d = 0,96$). O grupo controle sedentário também melhorou a performance, entretanto, numa menor magnitude, de apenas 75%.

Após a adoção do brusco aumento das cargas de treino (entre a 8ª a 11ª semana), os animais do grupo EXC estagnaram o desempenho em $154 \pm 171\%$ em relação ao teste pré experimental, enquanto o grupo EXS obteve ainda um aumento adicional do desempenho, para $263 \pm 80\%$, de modo que a diferença entre os dois grupos treinados ao final do protocolo gerou um grande *effect size*, de 0,91. Como consequência, o ganho de desempenho deste grupo mostrou-se estatisticamente superior na comparação com o grupo controle sedentário; entretanto não estava significativamente superior em relação ao grupo EXC, a despeito de estar $154 \pm 171\%$ melhorado em relação ao teste pré experimental, enquanto o grupo controle sedentário apresentou apenas um discreto aumento na performance de $25 \pm 55\%$.

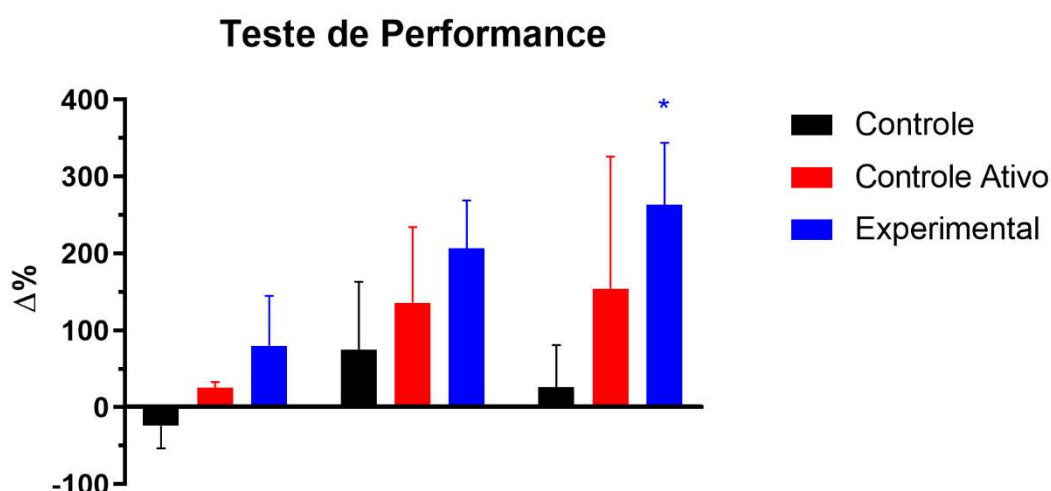


Figura 2. Resultado dos testes de performance realizados durante o protocolo experimental. Os dados estão apresentados como média e erro padrão. * indica diferença no desempenho físico dos animais do grupo suplementado relativo ao grupo controle na 11ª semana, de acordo com o teste ANOVA *two way*. Grupo controle (n=5), grupo suplementado (n=5), grupo exercício (n=5).

Nos testes comportamentais realizados na 8ª e na 11ª semana de protocolo experimental, não foram observadas grandes alterações nos parâmetros analisados (*grooming*, *ambulation*, *rearing*, *defecation*), exceto no parâmetro *rearing* na oitava semana quando compara o grupo EXS ao CNS).

Campo aberto	CNS		EXS		CNS	
Semana experimental	8ª	11ª	8ª	11ª	8ª	11ª
<i>Grooming</i>	32,6±38,4	24,8±27,6	50±21,6	56,2±35,6	42,6±36,6	57,8±23,4
<i>Ambulation</i>	16,6±5,8	9,2±5	20,4±9,8	18,6±13,7	21,2±4,4	23,2±6,2
<i>Rearing</i>	1,8±1,6	2,6±3,2*	3,6±1,9	2,8±0,4	6,2±2,4*	7,6±6,5
<i>defecation</i>	2,4±2,3	2,2±2,5	3,4±2,7	5,8±3,2	4,2±1,1	5±1

Quadro 1. Resultado do teste comportamental campo aberto. * Indica diferença no parâmetro *rearing*, na avaliação realizada na 8ª semana do grupo controle ativo em relação ao controle sedentário, de acordo com teste ANOVA *two way*. Grupo controle (n=5), grupo suplementado (n=5), grupo exercício (n=5).

Quando analisados parâmetros como capacidade antioxidante total e níveis de malondialdeído plasmáticos nos animais submetidos ao protocolo de exercício extenuante não foram encontradas alterações significativas neste sentido, como ilustrado na figura 3.

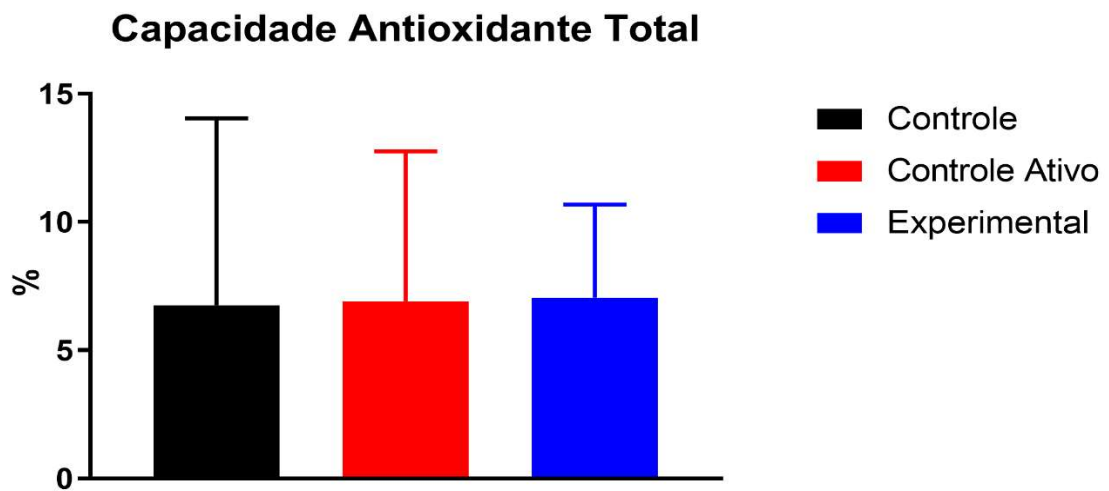
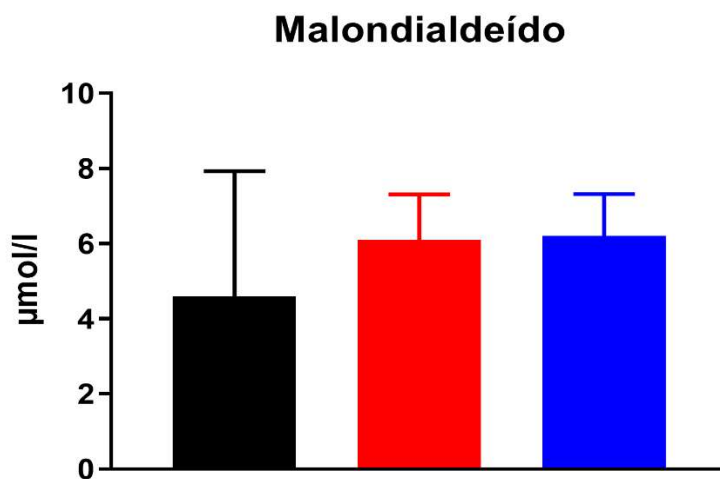
A**B**

Figura 3. Resultado dos valores de capacidade antioxidante total e malondialdeído. Os dados estão apresentados como média e erro padrão e foram analisados utilizando o teste ANOVA *one way*. Grupo controle (n=5), grupo suplementado (n=5), grupo exercício (n=5).

DISCUSSÃO

Os dados do nosso estudo apontam para um possível overreaching no grupo que não foi suplementado (EXC), enquanto isso, o grupo suplementado (EXS) apresentou melhora do desempenho superior durante todo o protocolo experimental, tanto na fase de treinamento regular (até 7ª semana) quanto frente a cargas excessivas de treino. Diante destes fatos, percebe-se que o protocolo de treinamento não promoveu overtraining, mas apenas um overreaching.

A utilização de alimentos como recurso ergogênico vem se tornando uma realidade e uma revisão de literatura já atesta isso (NADERI *et al.*, 2018). Diversos alimentos estão sendo testados devido as suas capacidades anti-inflamatórias e antioxidantes. Sabendo-se que o treinamento físico promove um acentuado aumento de variáveis de estresse oxidativo (RADAK *et al.*, 2013) e inflamação a intervenção com alimentos capazes de atenuar tais efeitos pode refletir em melhor recuperação e desempenho físico, esse fato é atestado pelos estudos que já existem na literatura e pelo crescente número de publicações.

Holh *et al.* (2009) desenvolveu o protocolo de treinamento para provocar overtraining em ratos. Este protocolo consiste de 2 semanas de adaptação e mais 11 semanas de treinamento de corrida em esteira, sendo 8 semanas de treinamento regular e mais três semanas em que ocorre um brusco aumento nas cargas de treino, justamente nestas condições que é gerado o overtraining. Ao final deste mesmo estudo foi constatado que 12 dos animais entraram em estado de overtraining enquanto outros 13 ainda mostraram melhora da performance mesmo perante cargas excessivas de treino. Outros laboratórios reproduziram este protocolo e confirmaram a capacidade de gerar overtraining (XIAO; CHEN; DONG, 2012; YIN *et al.*, 2016). Por outro lado, Stanojevic *et al.* (2016) também adotou este protocolo de treinamento e não observou redução da performance dos animais treinados.

Além do fato dos animais não terem apresentando redução na performance física após serem expostos a um protocolo de treino extenuante, a resposta em parâmetros como massa corporal e ingestão alimentar, apontam de fato os animais não atingiram o estado de overtraining, uma vez que a literatura demonstra que em condições de overtraining ocorre perturbações nestas variáveis (PEREIRA, B. C. *et al.*, 2015), o que não foi observado neste estudo.

Embora não tenha sido possível verificar uma possível proteção contra o overtraining, nosso protocolo levou a dois achados: 1- prevenção do overreaching; 2- melhor resposta do desempenho dos ratos suplementados. Quanto ao efeito ergogênico do suco de uva, este dado corrobora com estudos prévios em que a suplementação com suco de uva e derivados foi capaz de aumentar a performance física de ratos submetidos a treino leve a moderado (DAL-ROS *et al.*, 2011; MINEGISHI *et al.*, 2011). O protocolo de treino utilizado por Minegishi et al. (2013) foi de natação, consistiu de 30 minutos de treino por três vezes na semana, durante 10 semanas. Além do fato da modalidade adotada ser diferente do nosso estudo (corrida), neste protocolo não houve aumento das cargas de treino (volume ou intensidade). No estudo de Dal-Ros et al. (2011) a modalidade escolhida foi de corrida em esteira, entretanto, utilizou-se um protocolo agudo, já o que adotamos foi um protocolo crônico.

Sabe-se que existe uma linha tênue entre cargas de treino ótimas e excessivas, e que os recursos nutricionais são importantes fatores para determinar o sucesso desportivo de um atleta (KREIDER *et al.*, 2018). Visto isso, observa-se na literatura um crescente número de estudos em que alimentos são capazes de promover algum efeito ergogênico (NADERI *et al.*, 2018). Neste sentido, a suplementação do suco de uva roxa tem demonstrado efeitos interessantes perante cargas regulares de treino, tanto em modelo animal (DAL-ROS *et al.*, 2011) quanto em humanos (TOSCANO, L. *et al.*, 2015). Nosso estudo soma mais a este corpo de evidência que já existe, além disso, fornece um novo elemento, o efeito ergogênico perante cargas excessivas de treinamento,

A despeito da ausência de perturbações em variáveis de estresse oxidativo, já foi demonstrado em outros estudos que após um protocolo de indução ao overtraining os níveis de TBARS não foi modificado em tecido cardíaco (FERRARESSO *et al.*, 2012), entretanto, nossa análise foi realizada em plasma. Os tecidos mais interessantes para que essas análises fossem realizadas seriam os músculos, especialmente aqueles mais exigidos durante o treino de corrida, principalmente, sóleo e extensor, sendo que neste trabalho nós não realizamos estas análises, o que se caracteriza como uma limitação do nosso estudo.

Por outro lado, outros estudos já demonstraram que perante cargas de treino elevadas o processo de estresse oxidativo se intensificam e indicares destes impactos

se mostram elevados (TANSKANEN, M.; ATALAY; UUSITALO, 2010; KAWAMURA; MURAOKA, 2018).

A principal limitação do nosso estudo foi não conseguir demonstrar por qual via houve a melhora do desempenho. Sabe-se que a inflamação e o processo oxidativo são fenômenos que repercutem na performance física de atletas, e são importantes ferramentas para verificar as cargas internas de treino. Nós analisamos variáveis de estresse oxidativo e capacidade antioxidante, entretanto, o perfil inflamatório não foi avaliado. Outra limitação foi a ausência de análises em tecido muscular, onde os impactos do exercício são mais proeminentes.

CONCLUSÃO

O suco de uva é capaz de melhorar a performance de ratos submetidos a um protocolo de treinamento extenuante, mas este efeito ergogênico não foi mediado pelo estresse oxidativo, nem a capacidade antioxidante.

REFERÊNCIAS

- ABBAS MEAMARBASHI; ALI RAJABI. The effects of peppermint on exercise performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 1, 2013. Disponível em: <Journal of the International Society of Sports Nutrition>.
- ALOUI, K.; ABEDELMALEK, S.; CHTOUROU, H.; et al. Effects of time-of-day on oxidative stress, cardiovascular parameters, biochemical markers, and hormonal response following level-1 Yo-Yo intermittent recovery test. **Physiology International**, v. 104, n. 1, p. 77–90, 2017.
- ALVES, R. N.; OLIVEIRA, L.; COSTA, P.; et al. Monitoring and prevention of overtraining in athletes *. v. 12, p. 262–266, 2006.
- ANDERSON, T.; WIDEMAN, L. Exercise and the Cortisol Awakening Response: A Systematic Review. **Sports Medicine - Open**, v. 3, n. 1, p. 37, 2017. Disponível em: <<http://sportsmedicine-open.springeropen.com/articles/10.1186/s40798-017-0102-3>>.
- ANGELINE, A.; M, M.; A, D.; et al. The Overtraining Syndrome in Athletes: A Stress Related Disorder. 2004.
- AUBRY, A.; HAUSSWIRTH, C.; LOUIS, J.; et al. The development of functional overreaching is associated with a faster heart rate recovery in endurance athletes. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–16, 2015a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0139754>>.
- AUBRY, A.; HAUSSWIRTH, C.; LOUIS, J.; et al. The development of functional overreaching is associated with a faster heart rate recovery in endurance athletes. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–16, 2015b.
- BANDYOPADHYAY, A.; BHATTACHARJEE, I. Physiological Perspective of Endurance Overtraining – A Comprehensive Update. **Journal of Medicine (Cincinnati)**, v. 5, n. 1, p. 7–20, 2012.
- BAUMERT, P.; LAKE, M. J.; STEWART, C. E.; et al. **Genetic variation and exercise-induced muscle damage: implications for athletic performance, injury and ageing**. [S.l.]: Springer Berlin Heidelberg, 2016. v. 116.
- BEITER, T.; FRAGASSO, A.; HUDEMANN, J.; et al. Short-term treadmill running as

a model for studying cell-free DNA kinetics in vivo. **Clinical Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 633–636, 2011.

BELLENGER, C. R.; FULLER, J. T.; THOMSON, R. L.; et al. Monitoring Athletic Training Status Through Autonomic Heart Rate Regulation : A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Medicine**, v. 46, n. 10, p. 1461–1486, 2016.

CADEGIANI, F. A.; KATER, C. E. Hormonal aspects of overtraining syndrome: a systematic review. **BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation**, v. 9, n. 1, p. 14, 2017. Disponível em:
<<http://bmcsportsscimedrehabil.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13102-017-0079-8>>.

CANO SOKOLOFF, N.; MISRA, M.; ACKERMAN, K. E. Exercise, Training, and the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Men and Women. **Frontiers of Hormone Research**, v. 47, p. 27–43, 2016.

CARFAGNO, D. G.; HENDRIX, J. C. Overtraining syndrome in the athlete: Current clinical practice. **Current Sports Medicine Reports**, v. 13, n. 1, p. 45–51, 2014.

CARVALHO-PEIXOTO, J.; MOURA, M.; CUNHA, F.; et al. Consumption of açaí (Euterpe Oleracea Martius) functional beverage reduces muscle stress and improves effort tolerance in elite athletes: a randomized controlled intervention study. **Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquée, nutrition et métabolisme**, p. 1–29, 2016.

CORSETTI, R.; BARASSI, A.; PEREGO, S.; et al. Changes in urinary amino acids excretion in relationship with muscle activity markers over a professional cycling stage race: In search of fatigue markers. **Amino Acids**, v. 48, n. 1, p. 183–192, 2016.

DAL-ROS, S.; ZOLL, J.; LANG, A. L.; et al. Chronic intake of red wine polyphenols by young rats prevents aging-induced endothelial dysfunction and decline in physical performance: Role of NADPH oxidase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 404, n. 2, p. 743–749, 2011.

DALLA CORTE, C. L.; DE CARVALHO, N. R.; AMARAL, G. P.; et al. Antioxidant effect of organic purple grape juice on exhaustive exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 5, p. 558–565, 2013. Disponível em:

<<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/apnm-2012-0230>>.

DONG, J. G. The role of heart rate variability in sports physiology (Review).

Experimental and Therapeutic Medicine, v. 11, n. 5, p. 1531–1536, 2016.

DUCLOS, M.; TABARIN, A. Exercise and the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis.

Frontiers of Hormone Research, v. 47, p. 12–26, 2016.

DUPUY, O.; BHERER, L.; AUDIFFREN, M.; et al. Night and postexercise cardiac autonomic control in functional overreaching. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 2, p. 200–208, 2013. Disponível em:

<<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/apnm-2012-0203>>.

FERRARESSO, R. L. P.; BUSCARIOLLI DE OLIVEIRA, R.; MACEDO, D. V.; et al. Interaction between overtraining and the interindividual variability May (Not) trigger muscle oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, 2012.

GHOLAMNEZHAD, Z.; HOSSEIN BOSKABADY, M.; HOSSEINI, M.; et al. Iranian Journal of Basic Medical Sciences Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat. **Iran J Basic Med Sci**, v. 17, n. 11, p. 1–8, 2014.

GILLINOV, S.; ETIWY, M.; WANG, R.; et al. Variable Accuracy of Wearable Heart Rate Monitors during Aerobic Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, n. 19, p. 1, 2017. Disponível em: <<http://insights.ovid.com/crossref?an=00005768-9000000000-97240>>.

GILSON, S. F.; SAUNDERS, M. J.; MORAN, C. W.; et al. Effects of chocolate milk consumption on markers of muscle recovery following soccer training: a randomized cross-over study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 19, 2010. Disponível em: <<http://jissn.biomedcentral.com/articles/10.1186/1550-2783-7-19>>.

GOMEZ-CABRERA, M.; VIÑA, J.; JI, L. Role of Redox Signaling and Inflammation in Skeletal Muscle Adaptations to Training. **Antioxidants**, v. 5, n. 4, p. 48, 2016.

Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-3921/5/4/48>>.

GONÇALVES, M. C.; BEZERRA, F. F.; ELEUTHERIO, E. C. DE A.; et al. Organic grape juice intake improves functional capillary density and postocclusive reactive hyperemia in triathletes. **Clinics**, v. 66, n. 9, p. 1537–1541, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322011000900005&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

HAAS, I. C. DA S.; TOALDO, I. M.; M?LLER, C. M. O.; et al. Modeling of drying kinetics of the non-pomace residue of red grape (*V. labrusca* L.) juices: Effect on the microstructure and bioactive anthocyanins. **Journal of Food Process Engineering**, n. March, p. e12568, 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/jfpe.12568>>.

HAAS, I. C. DA S.; TOALDO, I. M.; DE GOIS, J. S.; et al. Phytochemicals, Monosaccharides and Elemental Composition of the Non-Pomace Constituent of Organic and Conventional Grape Juices (*Vitis labrusca* L.): Effect of Drying on the Bioactive Content. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 71, n. 4, p. 422–428, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11130-016-0579-9>>.

HADI, A.; POURMASOUMI, M.; KAFESHANI, M.; et al. The Effect of Green Tea and Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) Supplementation on Oxidative Stress and Muscle Damage in Athletes. **Journal of Dietary Supplements**, v. 14, n. 3, p. 346–357, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/19390211.2016.1237400>>.

HALEAGRAHARA, N.; RADHAKRISHNAN, A.; LEE, N.; et al. Flavonoid quercetin protects against swimming stress-induced changes in oxidative biomarkers in the hypothalamus of rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 621, n. 1–3, p. 46–52, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.08.030>>.

HALSON, S. L. Monitoring Training Load to Understand Fatigue in Athletes. v. 44, 2014.

HALSON, S. L.; JEUKENDRUP, A. E. Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. **Sports Medicine**, v. 34, n. 14, p. 967–981, 2004.

HARMS-RINGDAHL, M.; JENSSEN, D.; HAGHDOOST, S. Tomato juice intake suppressed serum concentration of 8-oxodG after extensive physical activity. **Nutrition Journal**, v. 11, n. 1, p. 29, 2012. Disponível em: <Nutrition Journal>.

- HAYES, L. D.; GRACE, F. M.; BAKER, J. S.; et al. Exercise-Induced Responses in Salivary Testosterone, Cortisol, and Their Ratios in Men: A Meta-Analysis. **Sports Medicine**, v. 45, n. 5, p. 713–726, 2015.
- HOHL, R.; FERRARESSO, R. L. P.; DE OLIVEIRA, R. B.; et al. Development and characterization of an overtraining animal model. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 5, p. 1155–1163, 2009.
- HOTTENROTT, K.; HOOS, O.; ESPERER, H. D. Herzfrequenzvariabilität und sport. Aktueller stand. **Herz**, v. 31, n. 6, p. 544–552, 2006.
- HUANG, W. C.; CHIU, W. C.; CHUANG, H. L.; et al. Effect of curcumin supplementation on physiological fatigue and physical performance in mice. **Nutrients**, v. 7, n. 2, p. 905–921, 2015.
- HUGHES, D. C.; ELLEFSEN, S.; BAAR, K. Adaptations to Endurance and Strength Training. p. 1–18, 2017.
- KAJAIA, T.; MASKHULIA, L.; CHELIDZE, K.; et al. the Effects of Non-Functional Overreaching and Overtraining on Autonomic Nervous System Function in Highly Trained Athletes. **Georgian medical news**, n. 264, p. 97–103, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28480859>>.
- KARP, J. R.; JOHNSTON, J. D. Chocolate milk as a post -exercise recovery aid. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 16, n. 23, p. 78–91, 2006.
- KAWAMURA, T.; MURAOKA, I. Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. **Antioxidants**, v. 7, n. 9, p. 119, 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-3921/7/9/119>>.
- KIVINIEMI, A. M.; TULPPO, M. P.; HAUTALA, A. J.; et al. Altered relationship between R-R interval and R-R interval variability in endurance athletes with overtraining syndrome. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 24, n. 2, p. 77–85, 2014.
- KREHER, J. B.; SCHWARTZ, J. B. Overtraining Syndrome: A Practical Guide. **Sports Health: A Multidisciplinary Approach**, v. 4, n. 2, p. 128–138, 2012. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1941738111434406>>.

KREIDER, R. B.; WILBORN, C. D.; TAYLOR, L.; et al. ISSN Exercise & Sport Nutrition Review: Research & Recommendations. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 15, p. 57, 2018.

KUBOTA, Y.; CHEN, L. Y.; WHITSEL, E. A.; et al. Heart rate variability and lifetime risk of cardiovascular disease: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. **Annals of Epidemiology**, 2017. Disponível em:
<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S104727971730515X>>.

LAFAY, S.; JAN, C.; NARDON, K.; et al. Grape extract improves antioxidant status and physical performance in elite male athletes. **Journal of sports science & medicine**, v. 8, n. 3, p. 468–80, 2009. Disponível em:
<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3763295&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

LEIFERT, W. R.; ABEYWARDENA, M. Y. Cardioprotective actions of grape polyphenols. **Nutrition Research**, v. 28, n. 11, p. 729–737, 2008. Disponível em:
<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0271531708001917>>.

LUNN, W. R.; PASIAKOS, S. M.; COLLETO, M. R.; et al. Chocolate milk and endurance exercise recovery: Protein balance, glycogen, and performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 44, n. 4, p. 682–691, 2012.

MACKINNON, L. T. Overtraining effects on immunity and performance in athletes. **Immunology and Cell Biology**, v. 78, n. 5, p. 502–509, 2000. Disponível em:
<<http://www.nature.com/doifinder/10.1111/j.1440-1711.2000.t01-7-.x>>.

MAGAL, M.; DUMKE, C. L.; URBIZTONDO, Z. G.; et al. Relationship between serum creatine kinase activity following exercise-induced muscle damage and muscle fibre composition. **Journal of Sports Sciences**, v. 28, n. 3, p. 257–266, 2010.

MAIN, L. C.; DAWSON, B.; HEEL, K.; et al. Relationship between inflammatory cytokines and self-report measures of training overload. **Research in sports medicine**, v. 18, n. 2, p. 127–139, 2010. Disponível em:
<<http://hdl.handle.net/10536/DRO/DU:30031231%5Cnhttp://www.informaworld.com/smppp/title~content=t713926139%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1080/15438621003627133%5Cnhttp://www.informaworld.com/>>.

MARGONIS, K.; FATOUROS, I. G.; JAMURTAS, A. Z.; et al. Oxidative stress

biomarkers responses to physical overtraining: Implications for diagnosis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, n. 6, p. 901–910, 2007.

MARIN, D. P.; BOLIN, A. P.; CAMPOIO, T. R.; et al. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: Implications for sport training monitoring. **International Immunopharmacology**, v. 17, n. 2, p. 462–470, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2013.07.009>>.

MAURÍCIO GATTÁS BARA FILHO; NOGUEIRA, R. A.; ANDRADE, F. C. DE J. L. F.; et al. Adaptação e validação da versão brasileira do questionário de overtraining. **HU Revista**, p. 47–53, 2010.

MCCONNELL, E. L.; BASIT, A. W.; MURDAN, S. Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH , fluid and lymphoid tissue , and implications for in-vivo experiments. p. 63–70, 2008.

MCLEAY, Y.; STANNARD, S.; HOULTHAM, S.; et al. Dietary thiols in exercise: oxidative stress defence, exercise performance, and adaptation. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 12, 2017. Disponível em: <<http://jissn.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12970-017-0168-9>>.

MEEUSEN, R.; PIACENTINI, M. F.; BUSSCHAERT, B.; et al. Hormonal responses in athletes: The use of a two bout exercise protocol to detect subtle differences in (over)training status. **European Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 2–3, p. 140–146, 2004.

MEEUSEN, ROMAIN; WATSON, P.; HASEGAWA, H.; et al. Brain neurotransmitters in fatigue and overtraining. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 32, n. 5, p. 857–864, 2007. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/H07-080>>.

MEEUSEN, ROMAIN; DUCLOS, M.; FOSTER, C.; et al. Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: Joint consensus statement of the european college of sport science and the American College of Sports Medicine. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 45, n. 1, p. 186–205, 2013.

MINEGISHI, Y.; HARAMIZU, S.; HASE, T.; et al. Red grape leaf extract improves endurance capacity by facilitating fatty acid utilization in skeletal muscle in mice. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 9, p. 1983–1989, 2011.

MOUROT, L.; BOUHADDI, M.; PERREY, S.; et al. Decrease in heart rate variability with overtraining: assessment by the Poincaré plot analysis. **Clinical physiology and functional imaging**, v. 24, n. 1, p. 10–18, 2004.

MUJKA, I. Quantification of Training and Competition Loads in Endurance Sports : Methods and Applications. p. 9–17, 2017.

MUJKA, I. Quantification of training and competition loads in endurance sports: methods and applications. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 32, p. 1–44, 2011.

NADERI, A.; REZAEI, S.; MOUSSA, A.; et al. Fruit for sport. **Trends in Food Science and Technology**, v. 74, p. 85–98, 2018.

OWENS, D. J.; TWIST, C.; COBLEY, J. N.; et al. Exercise-induced muscle damage: What is it, what causes it and what are the nutritional solutions? **European Journal of Sport Science**, v. 0, n. 0, p. 1–15, 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17461391.2018.1505957>>.

PAULSEN, G.; MIKKELSEN, U. R.; RAASTAD, T.; et al. Leucocytes, cytokines and satellite cells: What role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? **Exercise Immunology Review**, v. 18, p. 42–97, 2012.

PEDERSEN, B. K. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 47, n. 8, p. 600–611, 2017.

PEREIRA, B.; PAULI, J.; ANTUNES, L. M.; et al. Overtraining is associated with DNA damage in blood and skeletal muscle cells of Swiss mice. **BMC Physiology**, v. 13, n. 1, p. 11, 2013. Disponível em: <<http://bmcpphysiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6793-13-11>>.

PEREIRA, B. C.; DA ROCHA, A. L.; PAULI, J. R.; et al. Excessive eccentric exercise leads to transitory hypothalamic inflammation, which may contribute to the low body weight gain and food intake in overtrained mice. **Neuroscience**, v. 311, n. October, p. 231–242, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.10.027>>.

PLEWS, D. J.; SCOTT, B.; ALTINI5, M.; et al. Note : This article will be published in a

forthcoming issue of the Journal of Physical Activity & Health . This article appears here in its accepted , peer-reviewed form ; it has not been copy edited , proofed , or formatted by the publisher . Psychosoci. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 32, p. 1–44, 2017.

PLEWS, D. J.; LAURSEN, P. B.; STANLEY, J.; et al. Training adaptation and heart rate variability in elite endurance athletes: Opening the door to effective monitoring. **Sports Medicine**, v. 43, n. 9, p. 773–781, 2013.

POWERS, S. K.; SOLLANEK, K. J.; WIGGS, M. P.; et al. Exercise-induced improvements in myocardial antioxidant capacity : the antioxidant players and cardioprotection. v. 48, n. August 2013, p. 43–51, 2014.

RADAK, Z.; ZHAO, Z.; KOLTAI, E.; et al. Oxygen Consumption and Usage During Physical Exercise: The Balance Between Oxidative Stress and ROS-Dependent Adaptive Signaling. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 10, p. 1208–1246, 2013. Disponível em: <<http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2011.4498>>.

ROHLFS, I. C. P.; DE MARA, L. S.; DE LIMA, W. C.; et al. Relationship of the overtraining syndrome with stress, fatigue, and serotonin. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, p. 367–372, 2005.

SAFARINEJAD, M. R.; AZMA, K.; KOLAH, A. A. The Effects of intensive, long-term treadmill running on reproductive hormones, hypothalamus-pituitary-testis axis, and semen quality: A randomized controlled study. **Journal of Endocrinology**, v. 200, n. 3, p. 259–271, 2009.

SCHMIKLI, S. L.; BRINK, M. S.; VRIES, W. R. DE; et al. Can we detect non-functional overreaching in young elite soccer players and middle-long distance runners using field performance tests ? p. 631–636, 2011.

SCHMITT, L.; REGNARD, J.; PARMENTIER, A. L.; et al. Typology of Fatigue by Heart Rate Variability Analysis in Elite Nordic-skiers. **International Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 12, p. 999–1007, 2015.

SCHWELLNUS, M.; SOLIGARD, T.; ALONSO, J.; et al. How much is too much ? (Part 2) International Olympic Committee consensus statement on load in sport and risk of illness. n. Part 2, p. 1043–1052, 2016.

SELYE, H. STRESS AND THE GENERAL ADAPTATION SYNDROME. 1950.

SILVA-E-OLIVEIRA, J.; AMÉLIO, P. M.; ABRANCHES, I. L. L.; et al. Heart rate variability based on risk stratification for type 2 diabetes mellitus. **Einstein (São Paulo)**, v. 15, n. 2, p. 141–147, 2017.

SILVA, F. O. C. DA; MACEDO, D. V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 4, p. 320–328, 2011.

SMITH, D. J. A Framework for Understanding the Training Process Leading to Elite Performance. **Sports Medicine**, v. 33, n. 15, p. 1103–1126, 2003.

SMITH, L. L. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? **Medicine and science in sports and exercise**, v. 32, n. 2, p. 317–31, 2000.

SMITH, L. L. Overtraining, excessive exercise, and altered immunity: Is this a T helper-1 versus T helper-2 lymphocyte response? **Sports Medicine**, v. 33, n. 5, p. 347–364, 2003.

STANOJEVIC, D.; JAKOVLJEVIC, V.; BARUDZIC, N.; et al. Overtraining does not induce oxidative stress and inflammation in blood and heart of rats. **Physiological Research**, v. 65, n. 1, p. 81–90, 2016.

STONE, M.; PLISK, S.; COLLINS, D. Strength and conditioning Training Principles : Evaluation of Modes and Methods of Resistance Training - A Coaching Perspective. **Sports Biomechanics**, n. October 2014, p. 37–41, 2007.

STRÜDER, H. K. The serotonergic system: Implications for overtraining and exercise-induced eating disorders. **European Journal of Sport Science**, v. 3, n. 1, p. 1–21, 2003.

TANSKANEN, M.; ATALAY, M.; UUSITALO, A. Altered oxidative stress in overtrained athletes. **Journal of Sports Sciences**, v. 28, n. 3, p. 309–317, 2010.

TANSKANEN, M. M.; KYROLAINEN, H.; UUSITALO, A. L.; et al. Serum Sex Hormone-Binding Globulin and Cortisol Concentrations Are Associated With Overreaching During Strenuous Military Training. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, n. 3, p. 787–797, 2011.

TARTIBIAN, B.; MALEKI, B. H. The Effects of Honey Supplementation on Seminal Plasma Cytokines, Oxidative Stress Biomarkers, and Antioxidants During 8 Weeks of Intensive Cycling Training. **Journal of Andrology**, v. 33, n. 3, p. 449–461, 2012.

THOMAS, J.; NELSON, J.; SILVERMAN, S. **THOMAS, J.; NELSON, J.; SILVERMAN, S. Métodos de pesquisa em atividade física. Porto Alegre: Artmed, 2012. 6º ed.** 6. ed. Porto Alegre: [s.n.], 2012.

TIAN, Y.; HE, Z.; ZHAO, J.; et al. Heart Rate Variability Threshold Values for Early-Warning Nonfunctional Overreaching in Elite Female Wrestlers. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 27, n. 6, p. 1511–1519, 2013.

TOSCANO, L.; TAVARES, R.; TOSCANO, L.; et al. Potential Ergogenic Activity of Grape Juice in Runners. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2015.

TOSCANO, L. T. Efeitos da suplementação de suco de uva sobre estresse oxidativo, inflamação, imunocompetência, desgaste muscular e desempenho de corredores recreacionais. 2015.

TOVAR-Y-ROMO, L. B. Neuroinflammation and physical exercise as modulators of adult hippocampal neural precursor cell behavior. p. 1–20, 2017.

TSITSIMPIKOU, C.; KIOUKIA-FOUGIA, N.; TSAROUHAS, K.; et al. Administration of tomato juice ameliorates lactate dehydrogenase and creatinine kinase responses to anaerobic training. **Food and Chemical Toxicology**, v. 61, p. 9–13, 2013.

TUBINO, M. **Metodologia Científica do Treinamento Desportivo**. 13ª ed. [S.l: s.n.], 2003.

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

WEINECK. **Manual de treinamento esportivo**. [S.l: s.n.], 1989.

XIAO, W.; CHEN, P.; DONG, J. Effects of Overtraining on Skeletal Muscle Growth and Gene Expression. p. 846–853, 2012.

YIN, L.; WANG, Q.; WANG, X.; et al. Effects of *Tribulus terrestris* saponins on

exercise performance in overtraining rats and the underlying mechanisms. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 94, n. 11, p. 1193–1201, 2016.

Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/cjpp-2016-0086>>.

YOUSSEF, S. BEN; BRISSON, G.; DOUCET-BEAUPRÉ, H.; et al. Neuroprotective benefits of grape seed and skin extract in a mouse model of Parkinson ' s disease.

Nutritional Neuroscience, v. 0, n. 0, p. 1–15, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1080/1028415X.2019.1616435>>.

RESULTADOS ADICIONAIS

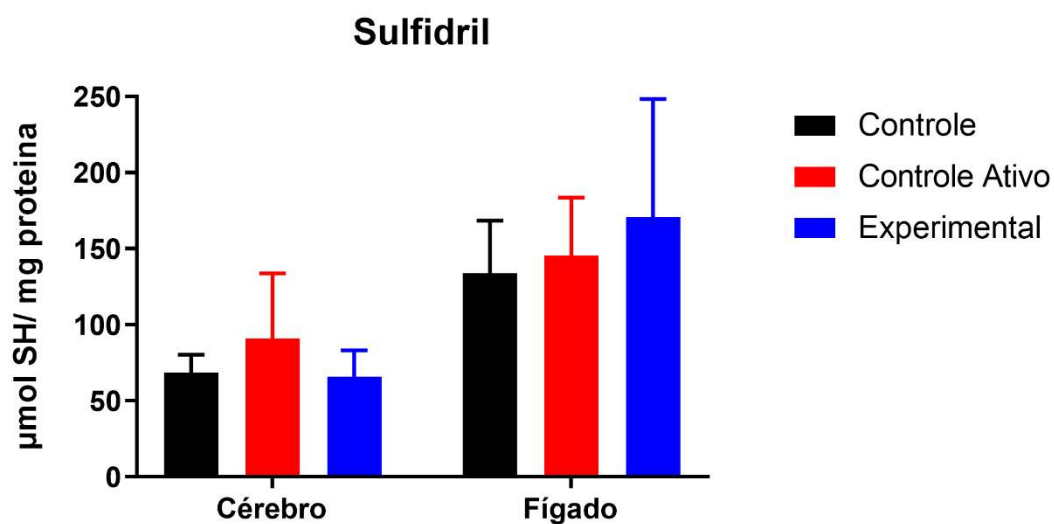
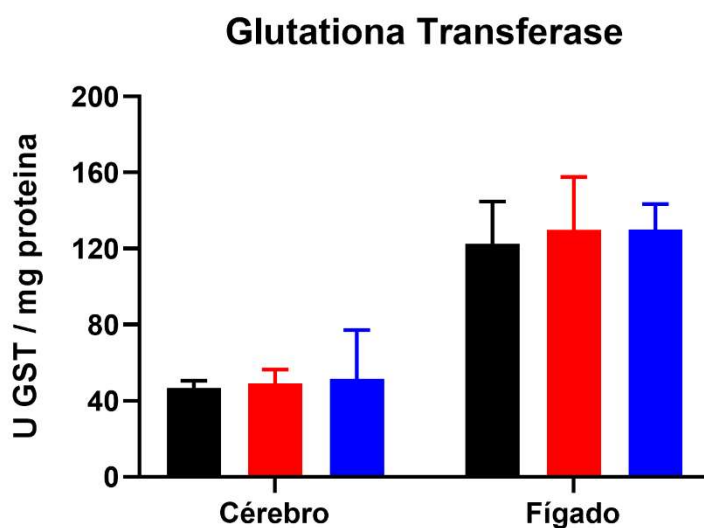
A**B**

Figura 4. Resultado dos valores de Sulfidril e Glutationa Transferase dos do cérebro e do fígado. Os dados estão apresentados como média e erro padrão e foram analisados utilizando o teste ANOVA *two way*. Grupo controle (n=5), grupo experimental (n=5), controle ativo (n=5).

ANEXOS

Anexo A - Teste do Campo Aberto

[illegible]



Universidade
Federal da
Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais

Reitoria



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DOS DERIVADOS DA UVA ROXA NA PREVENÇÃO DO ESTADO DE OVERTRAINING EM RATOS WISTAR", protocolada sob o CEUA nº 3978270418 (ID 000294), sob a responsabilidade de **Alexandre Sérgio Silva** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 17/07/2018.

We certify that the proposal "EFFECTS OF SUPPLEMENTATION OF RED GRAPE DERIVATIVES IN THE PREVENTION OF OVERTRAINING STATUS IN WISTAR RATS", utilizing 64 Heterogenics rats (64 males), protocol number CEUA 3978270418 (ID 000294), under the responsibility of **Alexandre Sérgio Silva** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 07/17/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **07/2018** a **01/2018** Área: **Nutrição**

Origem: **Unidade de Produção Animal IPeFarM**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **11 a 12 semanas** N: **64**

Linhagem: **Rattus Norvegicus - Wistar**

Peso: **250 a 300 g**

Local do experimento: A adaptação e todo o protocolo de intervenção com os animais ocorrerão no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde □ UFPB, sob coordenação da Profª Drª. Jailane Aquino.

João Pessoa, 18 de setembro de 2018

Prof. Dra. Islania Gisela Albuquerque Gonçalves
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

