

VILMA SIMÕES PEREIRA PANZA

**EFEITO DO CONSUMO DE CHÁ MATE (*Ilex paraguariensis*) EM
MARCADORES DO DANO MUSCULAR, DA INFLAMAÇÃO E DO
ESTRESSE OXIDATIVO APÓS O EXERCÍCIO EXCÊNTRICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz da Silva,
Dr.

**Florianópolis
2016**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

PANZA, Vilma S. P.

EFEITO DO CONSUMO DE CHÁ MATE (*Ilex paraguariensis*) EM
MARCADORES DO DANO MUSCULAR, DA INFLAMAÇÃO E DO ESTRESSE
OXIDATIVO APÓS O EXERCÍCIO EXCÊNTRICO / Vilma S. P. PANZA
; orientador, Edson Luiz da Silva - Florianópolis, SC,
2016.

315 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós
Graduação em Nutrição.

Inclui referências


1. Nutrição. 2. Chá mate. 3. Dano muscular. 4.
Inflamação. 5. Estresse oxidativo. I. da Silva, Edson Luiz
. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

Vilma Simões Pereira Panza

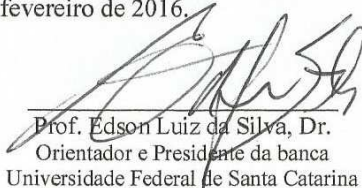
**EFEITO DO CONSUMO DE CHÁ MATE (*Ilex paraguariensis*) EM
MARCADORES DO DANO MUSCULAR, DA INFLAMAÇÃO E
DO ESTRESSE OXIDATIVO APÓS O EXERCÍCIO
EXCÊNTRICO**

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutor em Nutrição, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 17 de fevereiro de 2016.

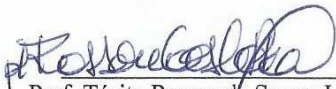


Prof.ª Rossana Pacheco da Costa
Proença, Dr.
Coordenadora do Curso

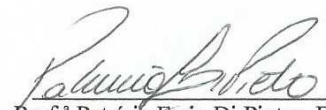


Prof. Edson Luiz da Silva, Dr.
Orientador e Presidente da banca
Universidade Federal de Santa Catarina

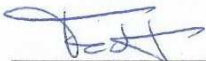
Banca Examinadora:



Prof. Tácito Pessoa de Souza-Junior,
Dr.
Universidade Federal do Paraná



Prof.ª Patrícia Faria Di Pietro, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Fabrizio Caputo, Dr.
Universidade do Estado de Santa
Catarina



Prof.ª Elisabeth Wazlawik, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Ricardo Dantas de Lucas, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo José e meu filho Giovanni, com todo amor. Aos meus amados pais, Nelson e Maisa. À minha irmã Regina, com todo carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais esta oportunidade...

Aos meus queridos pais, Nelson e Maisa, pelo amor e dedicação.

Ao Prof. Dr. Edson Luiz da Silva, meu estimado orientador, pela confiança, atenção e paciência de sempre.

Ao Prof Dr. Fernando Diefenthaler pelo imenso apoio e por acreditar no potencial do estudo.

Ao Prof Dr. Everson Nunes e aos colegas Aline Tamborindéguy, Bruno Moura, Henver Brunetta, Raphael Sakugawa, Marina V. de Oliveira, Emiliana de Oliveira Puel, Carolina Camargo, Rodolfo Dellagrana, Matheus Rosatto e AndersonTeixeira, pela valiosa colaboração na realização do estudo.

À minha querida irmã Regina Neves, a grande mão amiga, especialmente nos momentos difíceis...

Ao meu cunhado Paulo Neves, pelo grande incentivo de sempre.

Ao Prof. Dr. Luiz Guilherme Guglielmo em particular o LAEF, pelo empréstimo das instalações do Laboratório de Esforço Físico, LAEF (Departamento de Educação Física da UFSC), para a realização da pesquisa.

Aos voluntários que participaram do estudo, pelo engajamento nos testes e a "boa vontade" na coleta sanguínea.

À Leão Alimentos e Bebidas, por fornecer o chá mate utilizado no estudo.

EPÍGRAFE

*"O rio atinge seus objetivos porque
aprendeu a contornar obstáculos".*

Lao Tsé

RESUMO

PANZA, V. S. P.; SILVA, E. L. **Efeito do chá mate (*Ilex paraguariensis*) em marcadores do dano muscular, da inflamação e do estresse oxidativo após o exercício excêntrico.** Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2016.

O exercício excêntrico pode resultar em dano muscular, déficit na força muscular e respostas inflamatórias/oxidativas. Certos alimentos ricos em fitoquímicos podem melhorar as alterações funcionais/metabólicas induzidas pelo exercício excêntrico. Nesse sentido, o chá mate (*Ilex paraguariensis*) — rico em compostos fenólicos e saponinas — possui um potencial interessante, devido às suas propriedades antioxidantes/anti-inflamatórias. No presente estudo, foram investigados os efeitos do consumo de chá mate em marcadores do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação após uma sessão de exercícios excêntricos. Em desenho cruzado e randomizado, homens saudáveis (N=20) consumiram chá mate ou água (controle), três vezes/dia, por 11 dias. No 8º dia, os indivíduos realizaram três séries de 20 ações excêntricas máximas unilaterais com os músculos flexores do cotovelo. Os picos de torque isométrico, concêntrico e excêntrico foram medidos antes (PRÉ) e 0, 24, 48 e 72 h após o exercício excêntrico. Amostras sanguíneas foram obtidas no PRÉ e 24, 48 e 72 h após o exercício excêntrico. Foram quantificados: creatina quinase e aldolase no soro; compostos fenólicos totais no plasma; glutatona reduzida (GSH) e glutatona oxidada (GSSG) no sangue total e hidroperóxidos lipídicos e carbonilas protéicas no plasma; leucócitos no sangue; interleucina (IL)-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) no soro; e expressão das proteínas CD11b e p47^{phox} em neutrófilos. Em ambos os grupos, os valores dos picos de torque isométricos, concêntricos e excêntricos permaneceram abaixo do PRÉ, durante 72 h pós-exercício excêntrico (P<0,05). Entretanto, em 24 h, os picos de torque isométrico e concêntrico foram maiores no chá mate (P<0,05). A atividade da creatina quinase elevou acima do PRÉ em 72 h (P<0,05), em ambos os grupos. O chá mate diminuiu os valores da aldolase no PRÉ e em 24 h (P<0,05). A concentração de fenóis totais foi maior no chá mate no PRÉ e em 24 e 72 h (P<0,05). No controle, a concentração de GSH diminuiu em 72 h (P<0,05) e foi menor que no

chá mate no PRÉ e em 48 e 72 h ($P<0,05$). O exercício excêntrico não modificou a concentração de GSSG, porém, a razão GSH/GSSG em 72 h foi maior no chá mate ($P<0,05$). A concentração de hidroperóxido lipídicos não foi alterada pelo exercício excêntrico; enquanto que a de carbonilas protéicas aumentou em 72 h no controle ($P<0,05$). O exercício excêntrico não alterou os valores de leucócitos, IL-6, TNF- α , PCR-as, CD11b e p47phox. Entretanto, o chá mate preveniu o aumento nos valores de IL-1 β em 24 h ($P<0,05$) e diminuiu a concentração de IL-6 em 24 a 72 h ($P<0,05$) e de TNF- α em 24 h ($P<0,05$). Além disso, o chá mate atenuou a concentração de PCR-as entre o PRÉ e 72 h ($P<0,05$) e a expressão da p47phox no pré-esforço ($P=0,05$). Conclui-se que o chá mate acelerou a recuperação na força muscular 24 h após o exercício excêntrico. Além disso, o chá mate modulou favoravelmente as respostas ao exercício excêntrico relativo aos marcadores bioquímicos do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação, e melhorou os perfis sistêmicos de antioxidantes e mediadores inflamatórios no pré-esforço.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*; Erva Mate; Exercício excêntrico; Força muscular; Estresse oxidativo; Inflamação; Neutrófilos.

ABSTRACT

PANZA, V. S. P.; SILVA, E. L. **Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) consumption on muscle damage, inflammation, and oxidative stress markers after eccentric exercise.** Post Graduation Program in Nutrition. Federal University of Santa Catarina, Santa Catarina, 2016.

Eccentric exercise may result in muscle damage, deficit in muscle strength and inflammatory/oxidative responses. Certain foods rich in phytochemicals can improve the functional/metabolic changes induced by eccentric exercise. In this sense, mate tea (*Ilex paraguariensis*) - which is rich in phenolic compounds and saponins - has an interesting potential due to its antioxidant/anti-inflammatory properties. In this study, we investigated the effects of mate tea consumption on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after an acute bout of eccentric exercise. In a randomized crossover design, 20 healthy men were assigned to drink either mate tea or water (control), three times/day for 11 days. On the 8th day, subjects performed three sets of 20 maximal eccentric elbow flexion exercises. Isometric, concentric, and eccentric peak torques were measured before (PRE) and at 0, 24, 48, and 72 h after eccentric exercise. Blood samples were obtained before and at 24, 48, and 72 h after eccentric exercise and were analyzed for: serum creatine kinase and aldolase in serum; total phenolic compounds in plasma; reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) in whole blood and lipid hydroperoxide and protein carbonyls in plasma; blood leukocytes; interleukin (IL)-1 β , IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in serum; and CD11b and p47phox expression in neutrophils. In both groups, isometric, concentric, and eccentric peak torques remained below PRE values throughout 72 h after eccentric exercise ($P < 0.05$). However, at 24 h, isometric and concentric peak torques were higher ($P < 0.05$) in the mate tea than in the control group. Creatine kinase activity was higher at 72 h than PRE in both groups. Aldolase activity was lower in mate tea than in control at PRE and 24 h after eccentric exercise ($P < 0.05$). Phenolic compounds levels were higher in mate tea than in control group at PRE and 24 and 72 h after eccentric exercise ($P < 0.05$). In control, the GSH concentration was decreased at 72 h after eccentric

exercise ($P < 0.05$) and was smaller than in mate tea at PRE and 48 and 72 h after eccentric exercise ($p < 0.05$). GSSG level was unchanged in either group overtime. The GSH/GSSG ratio was higher in mate tea than in control at 72 h after eccentric exercise ($P < 0.05$). Lipid hydroperoxide concentration was not altered by the eccentric exercise; while protein carbonyls levels increased at 72 h after eccentric exercise in control ($P < 0.05$). Leukocyte counts, IL-1 β , IL-6, TNF- α , hs-PCR, CD11b, and p47^{phox} were unaffected in either groups overtime. In the control group, IL-1 β was higher at 24 h than at PRE ($P < 0.05$). IL-6 were lower in mate tea than in control from 24 to 72 h ($p < 0.05$). TNF- α was lower in mate tea than in control at 24 h after eccentric exercise ($P < 0.05$). In the mate group, hs-CRP was decreased at 72 h compared with PRE ($P < 0.05$). p47^{phox} expression was lower in mate tea than in control before eccentric exercise ($P = 0.05$). It is concluded that mate tea supplementation hastened muscle strength recovery over 24 h after eccentric exercise. Furthermore, mate intake favorably modulated muscle damage, oxidative stress, and inflammation biochemical markers responses to eccentric exercise and improved pre-exercise profiles of antioxidants and systemic inflammatory mediators.

Key words: *Ilex paraguariensis*; Yerba mate; Eccentric exercise; Muscle strength; Oxidative stress; Inflammation; Neutrophyls.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo teórico das respostas imunológicas e inflamatórias ao exercício e ao dano muscular, mostrando os papéis centrais de citocinas e neutrófilos no reparo do dano tecidual	37
Figura 2. Danos e inflamação musculares induzidos por exercício excêntrico	39
Figura 3. Modulações na valência e na afinidade da integrina.....	48
Figura 4. Reunião das subunidades da NADPH-oxidase na membrana seguida da produção de superóxido	50
Figura 5. Representação esquemática do protocolo experimental	72
Figura 6. Fluxo de participantes do estudo	77
Figura 7. Etapas da pesquisa	79
Figura 8. Dinamômetro isocinético (A) e banco Scott (B).....	87
Figura 9. Ilustração da realização de ajustes individuais no dinamômetro isocinético	88
Figura 10. Ilustração da execução do exercício excêntrico no dinamômetro isocinético	89
Figura 11. Ilustração da execução do teste de força máxima no dinamômetro isocinético	90
Figura 12. Pico de torque isométrico dos músculos flexores do cotovelo expresso em valores absolutos (A) e variação percentual ($\Delta\%$) em relação ao pré-dano (B), antes e após do dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.....	109
Figura 13. Pico de torque concêntrico dos músculos flexores do cotovelo expresso em valores absolutos (A) e variação percentual ($\Delta\%$) em relação ao pré-dano (B), antes e após do dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.....	110
Figura 14. Pico de torque excêntrico dos músculos flexores do cotovelo expresso em valores absolutos (A) e variação percentual ($\Delta\%$) em relação ao pré-dano (B), antes e após do dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.....	112
Figura 15. Concentração de fenólicos totais no plasma antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	115

Figura 16. Concentração de glutathiona reduzida (GSH) no sangue antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	116
Figura 17. Concentração de glutathiona oxidada (GSSG) no sangue antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	117
Figura 18. Razão glutathiona reduzida/glutathiona oxidada (GSH/GSSG) no sangue antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	117
Figura 19. Concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	118
Figura 20. Concentração de carbonilas protéicas no plasma antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	119
Figura 21. Número de leucócitos totais (A), granulócitos (B), monócitos (C) e linfócitos (D) no sangue antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	120
Figura 22. Concentração de interleucina-6 (IL-6) antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	121
Figura 23. Concentração de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	122
Figura 24. Expressão da proteína CD11b em neutrófilos (IMF, intensidade média de fluorescência - unidades arbitrárias) antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	124
Figura 25. Expressão da proteína p47 ^{phox} em neutrófilos (IMF, intensidade média de fluorescência - unidades arbitrárias) antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate	124

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Atribuições e profissionais envolvidos na coleta de dados	80
Quadro 2. Variáveis dependentes marcadoras do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação	81
Quadro 3. Correlações significativas observadas entre o pico de torque isométrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle	125
Quadro 4. Correlações significativas observadas entre o pico de torque concêntrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle	126
Quadro 5. Correlações significativas observadas entre o pico de torque excêntrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle	127
Quadro 6. Correlações significativas observadas entre os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle	128

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de fenólicos totais, de ácidos fenólicos, de saponinas e de cafeína presentes no chá mate	99
Tabela 2. Dados demográficos, antropométricos e de pico de torque isométrico dos indivíduos no período basal, após randomização para os grupos chá mate e controle	100
Tabela 3. Proporção de indivíduos nos níveis de classificação do IPAQ	100
Tabela 4. Percentual de indivíduos nas categorias de frequência de consumo de alimentos	102
Tabela 5. Ingestões diárias de energia, macronutrientes, micronutrientes e cafeína, nos períodos com consumo de chá mate ou controle	104
Tabela 6. Proporções de indivíduos nos períodos com consumo de chá mate ou controle, segundo as categorias de adequação do consumo de energia e de macronutrientes	106
Tabela 7. Proporções de indivíduos nos períodos com consumo de chá mate ou controle, segundo as categorias de adequação do consumo das vitaminas E, C e A e dos minerais, zinco, cobre, manganês e selênio	107
Tabela 8. Trabalho (N.m) realizado durante o protocolo de exercício excêntrico com os músculos flexores do cotovelo, nos grupos chá mate e controle	108
Tabela 9. Atividade das enzimas creatina quinase e aldolase no soro antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle	113
Tabela 10. Concentração de IL-1 β no soro antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	121
Tabela 11. Concentração de PCR no soro antes e após o exercício excêntrico, nos grupos chá mate e controle	123

SIGLAS E ABREVIATURAS

AI	Ingestão Adequada (<i>Adequate intake</i>)
ALT	Alanina transaminase
AMDR	Varição da Distribuição Aceitável de Macronutrientes (<i>Acceptable Macronutrient Distribution Range</i>)
AME	Ação muscular excêntrica
APC	Aloficocianina
AST	Aspartato transaminase
BHT	Hidroxitolueno butilado
BSA	Albumina sérica bovina
CARB	Carbonilas protéicas
CD	<i>Cluster</i> de diferenciação
CK	Creatina quinase
COX-2	Ciclooxigenase-2
CV	Coefficiente de variação
<i>d</i>	<i>d</i> de Cohen
DCM	Diclorometano
DMIT	Dano muscular excêntrico de início tardio
DNPH	2,4 dinitrofenilhidrazina
DRI	Recomendações de Cotas Alimentares (<i>Dietary Reference Intake</i>)
DTNB	Ácido ditionitrobenzóico
EAC	Equivalente de ácido clorogênico
E-C	Excitação-contração
EDTA	Ácido tetraacético etileno
EE	Exercício excêntrico
EER	Estimativa do Requerimento Energético (<i>Estimated Energy Requirement</i>)
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FEN	Compostos fenólicos totais
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
FRAP	Potencial antioxidante redutor férrico
G-CSF	Fator estimulante de colônia de granulócitos (<i>Granulocyte colony-stimulating factor</i>)
GM-CSF	Fator estimulante de colônia de granulócitos/monócitos (<i>Granulocyte/monocyte colony-stimulating factor</i>)
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase

GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
Hb	Hemoglobina
HL	Hidroperóxidos lipídicos
HOCl	Ácido hipocloroso
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IκB	Inibidor do NF- <i>kappa</i> B (<i>Inhibitor of NF- kappa B</i>)
IKKs	IκB quinases
IL	Interleucina
LOOH	Hidroperóxidos lipídicos
IMC	Índice de massa corporal
IMF	Intensidade média de fluorescência
IPAQ	Questionário Internacional de Atividade Física
LOX	Lipoxigenase
LTB ₄	Leucotrieno B ₄
MAPKs	Proteínas quinases ativadas por mitógenos (<i>Mitogen-activated protein kinases</i>)
MDA	Malondialdeído
MPO	Mieloperoxidase
NADPH	Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato
NEM310	N-etilmaleimida 310 mM
NF-κB	Fator nuclear kappa B (<i>Factor nuclear kappa B</i>)
N.m	Newton metros
NOS	Óxido nítrico sintase
O ₂ ^{•-}	Ânion radical superóxido
PBS	Tampão fosfato salino
PCR	Proteína c-reativa
PE	R-Ficoeritina
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PLA ₂	Fosfolipase A ₂
PÓS	Após o dano muscular excêntrico
PRÉ	Pré- dano muscular excêntrico
PT _{conc}	Pico de torque concêntrico
PT _{exc}	Pico de torque excêntrico
PT _{iso}	Pico de torque isométrico
QFA	Questionário de Frequência de Consumo Alimentar
RAE	Equivalentes de atividade de retinol
RD-3d	Registro dietético de três dias
RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i>

RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
RNA _m	RNA mensageiro
SOD	Superóxido dismutase
TCA	Ácido tricloracético
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TE	Tamanho do efeito
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TPTZ	2,4,6-Tri(2-Piridil)-s-Triazina
TTP	Trifenilfosfina
VET	Valor energético total
XDH	Xantina desidrogenase
XO	Xantina oxidase
δ	Delta de Cliff
$\Delta\%$	delta percentual (= variação percentual)
\bullet NO	Radical óxido nítrico
\bullet OH	Radical hidroxila

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	29
1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA	29
1.2 RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO.....	31
1.3 ESTRUTURA GERAL DA TESE.....	33
2 REVISÃO DE LITERATURA	35
2.1 APLICAÇÃO DAS AÇÕES MUSCULARES EXCÊNTRICAS... 35	35
2.2 DANO MUSCULAR ASSOCIADO AO EXERCÍCIO EXCÊNTRICO	35
2.2.1 Respostas inflamatórias locais	41
2.2.2 Influência da resposta inflamatória no dano muscular secundário.....	45
2.2.3 Aspectos funcionais de neutrófilos, com ênfase na integrina β_2 Mac-1.....	46
2.3 PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DEFESA ANTIOXIDANTE	51
2.3.1 Modificações oxidativas e sinalização para a produção de força muscular	54
2.4 MARCADORES DE DANO MUSCULAR PÓS-EXERCÍCIO	56
2.5 MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO PÓS-EXERCÍCIO	57
2.6 MARCADORES INFLAMATÓRIOS SISTÊMICOS	59
2.7 EVIDÊNCIAS DE BENEFÍCIOS DE FITOQUÍMICOS DIETÉTICOS ANTIOXIDANTES NO DANO MUSCULAR EXCÊNTRICO	62
2.8 A ERVA MATE	62
3 OBJETIVOS.....	68
3.1 OBJETIVO GERAL	68
3.1.1 Objetivos específicos	68
4 METODOLOGIA	69
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO.....	69
4.2 DEFINIÇÃO DE TERMOS RELEVANTES	71
4.3 LOCAL DO ESTUDO E POPULAÇÃO ESTUDADA	73
4.4 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA E PROCESSO DE AMOSTRAGEM	74

4.5 ETAPAS DA PESQUISA.....	76
4.6 PROCESSO DE COLETA DE DADOS.....	76
4.6 PROCESSO DE COLETA DE DADOS.....	77
4.7 MODELO DE ANÁLISE	79
4.8 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS	80
4.8.1 Caracterização do chá mate	80
4.8.1.1 Determinação de compostos fenólicos totais	80
4.8.1.2 Determinação de ácidos fenólicos e metilxantinas.....	81
4.8.1.3 Determinação de saponinas totais	81
4.8.1.4 Determinação da capacidade antioxidante	81
4.8.2 Preparo e consumo do chá mate	82
4.8.3 Avaliação antropométrica e do nível de atividade física.....	82
4.8.4 Avaliação do consumo alimentar	83
4.8.5 Protocolos do exercício excêntrico e dos testes de força máxima	84
4.8.6 Obtenção de amostras sanguíneas	89
4.8.7 Análises bioquímicas.....	89
4.8.7.1 Creatina quinase no soro	89
4.8.7.2 Aldolase no soro.....	89
4.8.7.3 Compostos fenólicos totais no plasma	90
4.8.7.4 Glutationa reduzida e glutaciona oxidada no sangue	90
4.8.7.5 Hidroperóxidos lipídicos no plasma.....	91
4.8.7.6 Carbonilas protéicas no plasma.....	92
4.8.7.7 Contagem de leucócitos no sangue.....	93
4.8.7.8 Citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α no soro	93
4.8.7.9 Proteína c-Reativa de alta sensibilidade (PCR-as) no soro	94
4.8.7.10 Expressão das proteínas CD11b e p47 ^{phox} em neutrófilos.....	94
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	95
4.10 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	96
5 RESULTADOS.....	97
5.1 TEORES DE FENÓIS TOTAIS, ÁCIDOS FENÓLICOS, SAPONINAS TOTAIS, CAFEÍNA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO CHÁ MATE	97
5.2 INDIVÍDUOS	98
5.3 CONSUMO DIETÉTICO	99
5.3.1 Consumo habitual	99
5.3.2 Consumo atual.....	101

5.4 MARCADORES DE DANO MUSCULAR.....	106
5.4.1 Função muscular.....	106
5.4.1.1 Pico de torque isométrico.....	106
5.4.1.2 Pico de torque concêntrico.....	108
5.4.1.3 Pico de torque excêntrico.....	109
5.4.2 Atividade sérica das enzimas creatina quinase e aldolase	111
5.5 CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS NO PLASMA.....	112
5.6 MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO.....	113
5.6.1 Status de glutathiona no sangue.....	113
5.6.2 Concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma	116
5.6.3 Concentração de carbonilas protéicas no plasma	116
5.7 MARCADORES DA INFLAMAÇÃO.....	117
5.7.1 Número de leucócitos no sangue.....	117
5.7.2 Concentração de citocinas IL-1β, IL-6 e TNF-α no soro.....	117
5.7.3 Concentração de PCR-as no soro	120
5.7.4 Expressão de CD11b em membrana de neutrófilos	121
5.7.5 Expressão da proteína p47^{phox} em neutrófilos	121
5.8 CORRELAÇÕES.....	123
6 DISCUSSÃO.....	128
6.1 EFEITOS DO CHÁ MATE EM MARCADORES DO DANO MUSCULAR.....	128
6.1.1 Força muscular.....	128
6.1.2 Creatina quinase sérica	131
6.1.2 Aldolase sérica.....	134
6.2 EFEITOS DO CHÁ MATE NA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	137
6.3 EFEITOS DO CHÁ MATE EM MARCADORES SANGUÍNEOS DO ESTRESSE OXIDATIVO.....	139
6.3.1 Status de glutathiona.....	139
6.3.2 Hidroperóxidos lipídicos e carbonilas protéicas no plasma .	142
6.4 EFEITOS DO CHÁ MATE EM MARCADORES DA INFLAMAÇÃO.....	146
6.4.1 Leucócitos sanguíneos.....	146
6.4.2 IL-1β, IL-6, TNF-α e PCR no soro	148
6.4.3 Expressão da proteína CD11b em neutrófilos	154
6.4.4 Expressão da proteína p47^{phox} em neutrófilos	156

6.5 POTENCIAIS MECANISMOS ENVOLVIDOS NOS EFEITOS DO CHÁ MATE NOS MARCADORES DO DANO MUSCULAR INVESTIGADOS: PROPOSTAS PARA FUTURAS PESQUISAS..	159
6.5.1 Modulação de eventos inflamatórios/antioxidantes no músculo danificado.....	160
6.5.2 Modulações de eventos ligados a uma possível falha na ativação de receptores RyR1s.....	163
6.5.3 Efeito ergogênico da cafeína.....	165
6.5.4 Proteção antioxidante e/ou melhora na estabilidade da membrana plasmática.....	166
7 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	168
8 REFERÊNCIAS	171
9 APÊNDICES.....	215
10 ANEXOS	307

1 INTRODUÇÃO

1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA

A prática de exercícios pode proporcionar diversos benefícios à composição corporal, à saúde e ao desempenho físico. As respostas adaptativas ao treinamento decorrem em parte do estresse fisiológico/metabólico associado ao esforço cuja magnitude depende de vários fatores, incluindo o tipo de atividade muscular realizada (GARBER et al., 2011), e, neste sentido, ressalta-se a importância da ação muscular excêntrica.

Na ação muscular excêntrica, o músculo é forçosamente alongado enquanto produz força (KNUTTGEN; KRAEMER, 1987). Esse tipo de ação muscular ocorre em vários movimentos corporais, cotidianos ou em exercícios, como, por exemplo, descer uma ladeira ou abaixar um halter (ALLEN, 2001). As ações musculares excêntricas podem ser responsáveis por significativa parte dos benefícios do treinamento, incluindo o aumento na força e na massa muscular (HIGBIE et al., 1996; HORTOBÁGYI et al., 1996). Entretanto, a realização de ações musculares excêntricas não habituais pode resultar no chamado dano muscular excêntrico (MORGAN; ALLEN, 1999), que pode incluir danos musculares estruturais, bem como uma série de alterações histológicas, fisiológicas e metabólicas, que culminam na recuperação do músculo afetado (MORGAN; ALLEN, 1999; PAULSEN et al., 2012). Dentre os eventos associados ao dano muscular excêntrico estão: (i) redução imediata e prolongada na força muscular; (ii) infiltração muscular de leucócitos; (iii) aumento na concentração sanguínea de marcadores da inflamação e do estresse oxidativo; e, (iv) um conjunto de sintomas conhecido como dor muscular de início tardio (DMIT) (MacINTYRE et al., 1996; CLOSE et al., 2004; PAULSEN et al., 2005).

O comprometimento na força muscular e a DMIT pós-exercício excêntrico são transitórios e a magnitude não é exacerbada pela repetição do esforço (EBBELING; CLARKSON, 1990). Não obstante, dentre esportistas, é comum, a busca de estratégias, incluindo farmacológicas, para atenuar o desconforto muscular e/ou o prejuízo na qualidade de treinamento (LEWIS; RUBY; BUSH-JOSEPH, 2012). Porém, a maioria desses recursos é de eficácia controversa, sendo alguns deles inclusive potencialmente desfavoráveis aos ajustes fisiológicos ao treinamento e à saúde (VAN WIJCK et al., 2012; MICHAELIDIS et al., 2013).

A etiologia do dano muscular excêntrico não é ainda totalmente compreendida (PAULSEN et al., 2012). Propôs-se, por exemplo, que o retardo na recuperação na força muscular, em parte, resultaria da ação de moléculas reativas e/ou de mediadores inflamatórios liberadas por fagócitos infiltrados no músculo afetado (MacINTYRE et al., 1996; PIZZA et al., 2005). De qualquer modo, há evidências de que o consumo de certos alimentos e extratos vegetais ricos em compostos bioativos (fitoquímicos) antioxidantes pode modular eventos celulares e/ou sintomas associados ao dano muscular excêntrico (para revisão: PANZA et al., 2015). Por exemplo, o consumo de suco de romã - rico em elagitininas - por nove dias melhorou a recuperação na força muscular pós-exercício excêntrico (TROMBOLD et al., 2010). A suplementação com extrato de erva cidreira - rico em verbascosídeo - influenciou positivamente marcadores inflamatórios e do estresse oxidativo em neutrófilos, após um período de treinamento de corrida em declive (FUNES et al., 2011).

Assim, é de grande proveito para o esportista ter diferentes estratégias nutricionais que possam auxiliar a sua recuperação após o dano muscular excêntrico. Entretanto, apesar da melhora no estado antioxidante do sangue, a limitação de benefícios da suplementação com fitoquímicos relatada em alguns estudos (para revisão: PANZA et al., 2015), ressalta a importância de se identificar intervenções dietéticas específicas que possam efetivamente favorecer a recuperação muscular pós-esforço, e não, apenas, utilizar-se de consumo baseado na alta capacidade antioxidante da intervenção *per se* (McLEAY et al., 2012). Nestes sentidos, o consumo de infusão de erva mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hill., Aquifoleacea) parece ser uma abordagem promissora. A erva mate é uma planta naturalmente cultivada no Brasil e se constitui em excelente fonte de fitoquímicos com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (para revisão: BRACESCO et al., 2011).

Há relatos de que o consumo de curta duração (i.e. 7 dias) ou prolongado (i.e. 20-60 dias) da infusão de erva mate verde ou tostada (chá mate) modulou a expressão gênica e a atividade de enzimas antioxidantes, em células imunológicas, assim como, melhorou a defesa antioxidante do plasma e a concentração sanguínea de lipídeos em seres humanos (MATSUMOTO et al., 2009; MORAIS et al., 2009; FERNANDES et al., 2012; BOAVENTURA et al., 2013). Por outro lado, as informações sobre os benefícios da erva mate no exercício são escassas. Recentemente foi demonstrado que a suplementação de chá mate solúvel liofilizado (5 g em 400 mL por dia), 1 h antes de um teste

incremental em esteira, em indivíduos saudáveis, atenuou a elevação nas concentrações circulantes de proteínas citosólicas, marcadoras de dano muscular imediatamente após o exercício (OLIVEIRA et al., 2014). Alkhatib (2014) relatou que a suplementação com cápsulas de folhas de erva mate trituradas, 1 h antes de exercícios aeróbios submáximos, melhorou a oxidação de ácidos graxos durante o esforço. Em estudo em animais, o tratamento com extrato de erva mate, durante quatro semanas de treinamento de natação, diminuiu a peroxidação lipídica e aumentou a atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase no músculo e no fígado (MORGAN-MARTINS et al., 2013)

Assim, existem evidências de que a erva mate pode proporcionar benefícios relacionados à saúde, bem como a certas condições de exercício. Contudo, nesse sentido, os potenciais benefícios da erva mate associados ao exercício excêntrico, em particular, não foram ainda diretamente examinados. Portanto, parece haver razões plausíveis que justifiquem a investigação dos efeitos do consumo de chá mate em eventos musculares e sistêmicos associados ao dano muscular excêntrico.

Diante desses argumentos, pergunta-se: o chá mate influencia favoravelmente a recuperação da força muscular e as concentrações de marcadores bioquímicos do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação em indivíduos submetidos a uma única sessão de exercício excêntrico?

1.2 RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO

Com o advento da ciência de alimentos funcionais (BRASIL, 1999), têm surgido novas perspectivas que podem ampliar as manobras dietéticas direcionadas ao exercício físico, e ao mesmo tempo, beneficiar a saúde do esportista. Contudo, essa abordagem não prescinde trilhar o “passo a passo” do método científico; havendo, assim, a premente necessidade de estudos que evidenciem e corroborem seus potenciais benefícios, a fim de que sua aplicabilidade na prática clínica seja solidamente fundamentada.

Nesse contexto, os efeitos positivos da ingestão de alimentos/extratos ricos em fitoquímicos no dano muscular excêntrico vêm atraindo o interesse de pesquisadores. Entretanto, identificamos lacunas no que diz respeito à eficácia e vantagens dessa estratégia (PANZA et al., 2015). Junto a isso, no contexto da nutrigenômica, os possíveis mecanismos moleculares subjacentes aos potenciais efeitos de fitoquímicos dietéticos no dano muscular excêntrico necessitam ser mais

explorados. Buscando contribuir no preenchimento dessas lacunas, direcionamos especial interesse à erva mate, em razão de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias - destacando-se o seu potencial em modular a expressão de proteínas -, e, ainda, por ela ser de fácil disponibilidade em nosso país.

Os possíveis benefícios do chá mate no exercício não haviam sido investigados, até o presente momento, em modelo de dano muscular induzido por exercício excêntrico agudo. O presente estudo demonstrou que o consumo de chá mate pode influenciar favoravelmente a recuperação da força muscular bem como alguns indicadores sanguíneos do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação após o exercício excêntrico. Ele contribuiu com conhecimentos originais sobre os efeitos do chá mate, assim como do exercício excêntrico, na expressão da proteína p47^{phox} em neutrófilos, um dos componentes do sistema NADPH-oxidase, o qual é responsável pela produção inicial de espécies reativas nessas células.

O estudo forneceu, assim, resultados que poderão auxiliar profissionais nutricionistas no planejamento dietético de indivíduos suscetíveis ao dano muscular associado ao exercício excêntrico, particularmente aquele pouco habitual, repetitivo e/ou intenso. O hábito de consumir chá mate regularmente pode representar vantajosa estratégia para esportistas, propondo-se, neste sentido, três principais possíveis benefícios:

1. Os efeitos modulatórios do consumo de chá mate na inflamação e no estresse oxidativo, associados a exercícios excêntricos, poderiam se refletir em melhores índices de recuperação e função muscular (WATSON et al., 2005; MARGARITIS; ROUSSEAU, 2008), o que pode representar maior qualidade de treinamento (MCLEAY et al., 2012);

2. A diminuição na concentração sanguínea basal de marcadores de inflamação e do estresse oxidativo pela ingestão do chá mate poderia, também, se refletir em benefícios gerais à saúde (MORAIS et al., 2009; KLEIN et al., 2011; FERNANDES et al., 2012; BOAVENTURA et al., 2012);

3. O consumo do chá mate, *per se*, se justifica como parte de dieta adequada, rica em antioxidantes.

Nota-se que as práticas de treinamentos físicos, baseadas em busca de melhorias na *performance*, composição corporal e/ou condições de saúde (THOMPSON, 2013), têm sido acompanhadas de baixo consumo de alimentos ricos em compostos antioxidantes (PANZA et al., 2007; 2008; MONTEIRO; PIMENTEL; SOUZA, 2012). A

ingestão de dietas pobres em antioxidantes associada ao treinamento pode representar maior vulnerabilidade ao estresse oxidativo celular e interferir negativamente no desempenho e na saúde dos indivíduos (WATSON et al., 2005; MARGARITIS; ROUSSEAU, 2008). Desta forma, o consumo de chá mate poderia ser entendido como parte dos "recursos" que integram um conjunto de medidas preventivas/atenuantes dos sintomas associados aos danos musculares associados ao exercício excêntrico (LEWIS; RUBY; BUSH-JOSEPH, 2012).

1.3 ESTRUTURA GERAL DA TESE

No Capítulo I, ressaltamos a importância do estudo relativo ao potencial do chá mate para modular alterações musculares e sistêmicas, que podem estar associadas ao dano muscular excêntrico. Foram destacados aspectos sobre a relevância e a originalidade da pesquisa assim como a sua contribuição para a Ciência e para profissionais ligados à área do exercício.

O Capítulo II compreende uma revisão de literatura, abrangendo aspectos funcionais e metabólicos do dano muscular excêntrico e, enfocando as alterações estruturais e funcionais do músculo, bem como respostas oxidativas e da inflamação musculares e sistêmicas. Além disto, o Capítulo contém um apêndice que consiste em artigo de revisão publicado (Apêndice A), cujo objetivo foi discutir criticamente os estudos que investigaram os efeitos da suplementação com compostos fitoquímicos antioxidantes dietéticos na recuperação do dano muscular excêntrico. O Capítulo finaliza com considerações sobre as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da erva mate.

No Capítulo III, são apresentados os objetivos do estudo geral e específicos, onde são elencados os marcadores do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação avaliados.

No Capítulo IV, apresenta-se a descrição detalhada dos aspectos metodológicos que envolveram a estruturação e a condução do protocolo de pesquisa, incluindo a coleta, análise e apresentação dos resultados obtidos e os procedimentos éticos adotados. O Capítulo contém, ainda, uma lista de termos relevantes que foram definidos para facilitar a compreensão da pesquisa.

O Capítulo V contém os resultados obtidos no estudo, os quais são apresentados na forma tradicional e inclui, como apêndice, um artigo original que foi aceito para publicação (Apêndice B).

No Capítulo VI, apresenta-se uma ampla discussão sobre os principais resultados observados, destacando-se a originalidade e a importância das evidências no contexto do dano muscular excêntrico.

Além disto, são apresentadas propostas de potenciais mecanismos envolvidos nos efeitos do chá mate nos marcadores do dano muscular investigados.

O Capítulo VII é dedicado às considerações finais, incluindo conclusões sobre a conformidade dos resultados observados e em relação aos objetivos propostos, limitações do estudo e recomendações para futuras pesquisas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 APLICAÇÃO DAS AÇÕES MUSCULARES EXCÊNTRICAS

A ação muscular representa o desenvolvimento de tensão muscular. Quando a força externa ultrapassa a força muscular desenvolvida, o músculo é alongado sob tensão, tendo-se assim uma ação muscular excêntrica (RODGERS; CAVANAGH, 1984). Do ponto de vista funcional, as ações musculares excêntricas servem primariamente à desaceleração ou à parada de um movimento (PROSKE; MORGAN, 2001). Assim, elas estão presentes em uma variedade de exercícios recreacionais, como agachamentos em treinamento contrarresistência; descidas de plataforma em aulas de *step*; e a execução de certos movimentos do Pilates (KRAEMER et al., 2002; TARTIBIAN; MALEKI; ABBASI, 2009; DORADO et al., 2012), bem como em diversos movimentos frequentemente executados em modalidades atléticas (ex. voleibol, futebol, tênis, basquete, corrida e lutas), como finalizar a descida de um salto, correr em declive e mudar de direção ou fazer paradas bruscas, estando-se em velocidade (KOVACS; ELLENBECKER, 2011; EBBEN, 2010; RATAMESS, 2011). Além disso, as ações musculares excêntricas fazem parte de movimentos cotidianos, tal como sentar-se e, ocupacionais, como, por exemplo, o manuseio de pistolas de parafusar (PROSKE; MORGAN, 2001; SESTO et al., 2008).

Protocolos de exercícios constituídos predominantemente de ações musculares excêntricas (i.e. exercícios em equipamento isocinético, corrida em declive, saltos, pedalada reversa em cicloergômetro e movimentos descendentes de plataforma) têm sido utilizados em pesquisas que buscam intencionalmente causar dano muscular (NEWHAM et al., 1983; CANNON et al., 1991; HELLSTEN et al., 1997; PAULSEN et al., 2010; MACALUSO et al., 2012). Dentre os protocolos mais frequentemente empregados, destacam-se os que envolvem exercício em dinamômetro isocinético, como modelo de esforço válido para a produção de dano muscular (CHILD et al., 1999; SAXTON et al., 2003; MAHONEY et al., 2008; MacINTYRE et al., 2001; PAULSEN et al., 2010; TROMBOLD et al., 2010).

2.2 DANO MUSCULAR ASSOCIADO AO EXERCÍCIO EXCÊNTRICO

Segundo Paulsen et al. (2012), embora não haja ainda clara definição para o termo "dano muscular induzido pelo exercício", esse pode ser entendido como danos musculares estruturais produzidos por

exercícios muito intensos ou prolongados e/ou não habituais, cuja recuperação total pode se estender por vários dias ou semanas. Para Morgan e Allen (1999), no que se refere aos danos musculares excêntricos, o termo abrangeria também todas as alterações que sucedem ao exercício excêntrico, e não apenas uma definição limitada aos danos histologicamente evidentes. Por outro lado, outros autores consideram que as modificações estruturais, subsequentes ao exercício excêntrico não habitual, façam parte do processo de remodelamento muscular induzido pelo esforço, não propriamente danos miofibrilares (YU; CARLSSON; THORNEL, 2004). Independentemente do conceito, a ocorrência e a magnitude do dano muscular excêntrico parece depender, primariamente, do grau de adaptação ao esforço e do protocolo do exercício executado (EBBELING; CLARKSON, 1990; TALBOT; MORGAN, 1998).

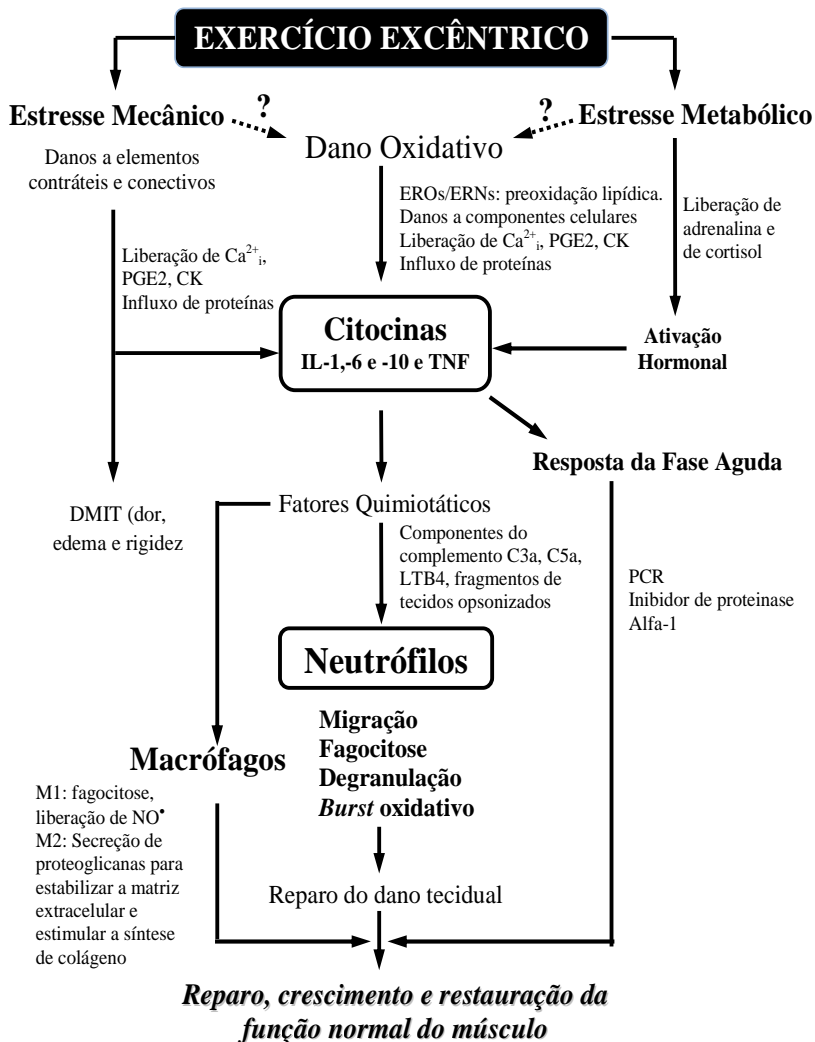
A etiologia do dano muscular excêntrico não é ainda totalmente clara. Não obstante, tendo-se em vista a sequência de eventos, distinguem-se duas naturezas de danos: o inicial, primariamente ligado ao estresse mecânico da contração e o secundário, de origem metabólica, possivelmente, ou pelo menos em parte, relacionado aos processos iniciais da reparação muscular pós-esforço (ARMSTRONG, 1991; ARMSTRONG; WARREN; WARREN, 1991; FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993; PYNE, 1994) (Figura 1).

Embora existam diferentes propostas, não há ainda consenso quanto ao mecanismo primário do dano muscular excêntrico. Para Proske e Morgan (2001), dois sinais marcantes de dano muscular podem ser diferenciados imediatamente após o exercício excêntrico: a presença de sarcômeros rompidos e a alteração no sistema de acoplamento excitação-contração (E-C). No entanto, os autores ressaltam que há controvérsias quanto a qual dos eventos se daria inicialmente, desencadeando os danos subsequentes.

Warren et al. (2001) consideram que a falha na via do acoplamento E-C, possivelmente na interface túbulo T—retículo sarcoplasmático, é que se constituiria no principal evento responsável pelos danos musculares pós-esforço excêntrico. Em oposição, uma das propostas mais discutidas é a *Popping sarcomere hypothesis*, estabelecida por Morgan (1990) e, segundo a qual, a sequência de eventos começaria com o rompimento (*popping*) de sarcômeros.

A hipótese de Morgan (1990) se fundamenta no conceito de que durante a ação muscular excêntrica, a partir de certa amplitude de alongamento (i.e. fase descendente da relação comprimento-tensão),

Figura 1 - Modelo teórico das respostas imunológicas e inflamatórias ao exercício e ao dano muscular, mostrando os papéis centrais de citocinas e neutrófilos no reparo do dano tecidual.



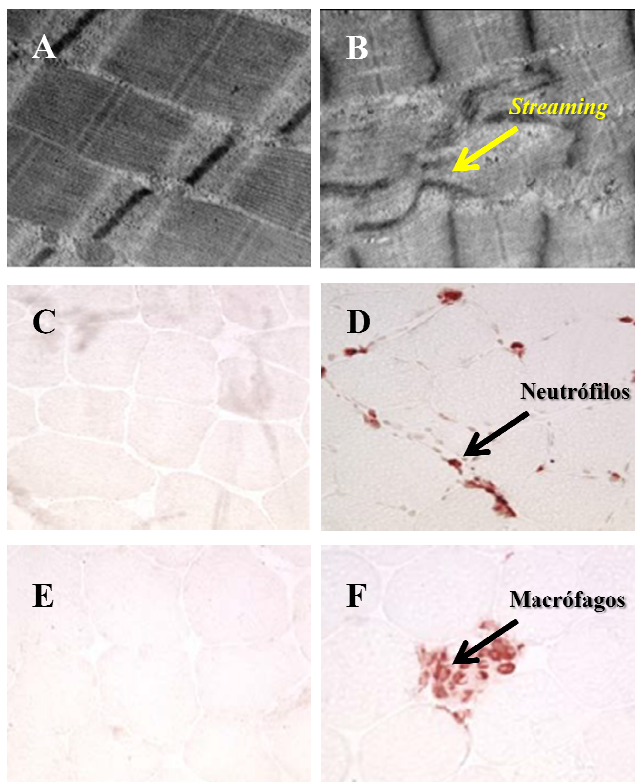
Fonte: Adaptado de Pyne (1994); Armstrong; Warren; Warren, (1991). PGE₂, prostaglandina E₂; CK, creatina quinase; EROs/ERNs, espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio; DMIT, dor muscular de início tardio, PCR, proteína C-reativa, Ca^{2+} , cálcio intracelular, IL, interleucina; LTB4, leucotrieno 4.

ocorre uma rápida e não uniforme extensão de alguns sarcômeros (GORDON; HULEX; JULIAN, 1966). Assim, os sarcômeros "fracos" se tornariam instáveis, alongando-se além da sobreposição dos filamentos contráteis, de modo que a força produzida por eles se daria inteiramente por meio de elasticidade passiva, sem o envolvimento de pontes cruzadas. Após o evento, alguns desses sarcômeros permaneceriam "superalongados", ou rompidos, ou retornariam ao seu comprimento original, mas incapazes de desenvolver tensão ativa em contrações subsequentes. Em razão das conexões transversas do citoesqueleto, essa redução na funcionalidade contrátil dos sarcômeros rompidos produziria uma sobrecarga nos sarcômeros adjacentes, podendo, por fim, danificá-los. Um aumento na área de sarcômeros avariados poderia danificar membranas (i.e. sarcolema, retículo sarcoplasmático e túbulos T). Alterações nesses sistemas de membranas poderiam interferir no acoplamento E-C, bem como levar ao aumento na concentração intracelular de Ca^{2+} sob condições de repouso da fibra muscular. A abertura de canais de cátions ativados por alongamento contribuiria na elevação da concentração intracelular de Ca^{2+} em estado de repouso (para revisão: MORGAN; ALLEN, 1999).

Dentre as alterações histológicas que podem ser observadas na ultraestrutura muscular, logo após o dano muscular excêntrico, têm-se desorganizações miofibrilares, sinuosidades na linha Z (*streaming*) (Figura 2 A-B) e avarias em túbulos T e no sarcolema (NEWHAM et al. 1983; TAKEKURA et al., 2001). Rupturas na membrana celular podem alterar sua permeabilidade, resultando em liberação de proteínas citosólicas para o plasma (MCNEIL; KHAKEE, 1990). De fato, um aumento significativo na concentração plasmática de mioglobina foi verificado na primeira hora após o dano (ROSS et al., 2010). Mudanças em proteínas do citoesqueleto e na matriz extracelular foram detectadas nas primeiras horas subsequentes ao dano muscular (LIEBER; THORNELL; FRIDÉN, 1996; BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002).

A imediata redução na força muscular, após o exercício excêntrico, parece ser a consequência funcional primária do dano muscular inicial (ALLEN, 2001). Nas primeiras horas pós-esforço, o desempenho muscular é influenciado pela fadiga metabólica (FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993). Além disto, as distorções estruturais e a falha no acoplamento E-C podem contribuir consideravelmente com a fraqueza muscular (MORGAN, 1990; WARREN et al., 2001). Após o dano muscular excêntrico, a recuperação na força muscular se inicia, num primeiro estágio,

Figura 2 - Danos e inflamação musculares induzidos por exercício excêntrico.



Fonte: Mahoney et al. (2008). Exercício excêntrico (300 ações musculares excêntricas máximas) induz o dano muscular e a inflamação. Extensão do dano ultraestrutural (A-B) e infiltração de neutrófilos (C-D) e de macrófagos (E-F). (Fig. A: aumento x 30.000; Fig. C-F: aumento x 200).

relativamente rápida, dentro de 2-6 h pós-esforço (MacINTYRE et al., 1996; PAULSEN et al., 2010). Essa ligeira recuperação inicial está, provavelmente, ligada à recuperação da fadiga metabólica (FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993). Porém, após esse período, a recuperação da força não é completa, possivelmente, em razão dos danos físicos e/ou falha no acoplamento E-C (WARREN et al., 2001; PROSKE; MORGAN, 2001). Além disto, a força muscular pode apresentar nova queda (MacINTYRE et al., 1996; PAULSEN et al. 2010) e/ou sua recuperação pode permanecer suspensa de 24 a 72 h pós-

esforço, ou mais (JONES; NEWHAM; TORGAN, 1989; HOWELL; CHLEBOUN; CONATSER, 1993; PAULSEN et al., 2010; 2012).

Além de 24-72 h de recuperação, as evidências de danos estruturais podem aumentar, caracterizando os chamados danos secundários (ou tardios) (NEWHAM et al., 1983; JONES et al., 1986; FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993). Porém o tipo, a magnitude e a duração dos eventos tardios, bem como o tempo para a total recuperação estrutural/funcional do músculo, parecem depender da gravidade do dano inicial (PAULSEN et al., 2012).

Acompanhando o prejuízo na força muscular, observou-se agravamento de rupturas no aparato contrátil, redução no conteúdo miofibrilar e de proteínas citoesqueléticas (i.e. aumento na degradação) e necrose de fibras mortas (LOWE et al., 1995; INGALLS; WARREN; ARMSTRONG, 1998; TAKEKURA et al., 2001; BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002). Índícios de rupturas na matriz extracelular e aumento no volume mitocondrial foram verificados no período 24-96 h pós-exercício (CRAMERI et al., 2007; MACALUSO; ISAAC; MYBURGH, 2012). A elevação na concentração plasmática de proteínas citosólicas é frequentemente intensificada após 24 h do término do exercício, sugerindo exacerbação do dano muscular (PAULSEN et al., 2010). Elevadas concentrações de creatina, aldolase e lactato desidrogenase no soro foram verificadas entre 3-7 dias após o exercício excêntrico (EBBELIN; CLARKSON, 1990; BEATON et al., 2002; KANDA et al., 2014)

Os mecanismos envolvidos na progressão do dano muscular excêntrico não são ainda claramente entendidos. Propôs-se que a elevação na concentração intracelular de cálcio (Ca^{2+}) e a atividade de fagócitos ativados teriam importante participação, embora, por outro lado, estivessem também ligados aos eventos que antecedem a reparação e o remodelamento muscular (ARMSTRONG; WARREN; WARREN, 1991; TIDBALL, 2005; RAASTAD et al., 2010).

Dentre os mecanismos de danos, mediados pelo aumento na concentração intracelular de Ca^{2+} , estariam, por exemplo, a ativação das enzimas fosfolipase A₂ (PLA₂) e calpaína (DUAN et al., 1990; ARMSTRONG et al., 1993). A ativação da PLA₂ poderia aumentar os danos em membranas celulares, por meio da ação de produtos do metabolismo do ácido araquidônico via lipoxigenase (LOX) (JACKSON; WAGENMAKERS; EDWARDS, 1987; DUCAN; JACKSON, 1987; ARMSTRONG, 1990). No sarcômero, a calpaína - que é uma protease neutra - atua principalmente em proteínas do citoesqueleto, levando à liberação dos miofilamentos danificados, para

posterior degradação via sistema ubiquitina-proteossomo (para revisão: BELCASTRO; SHEWCHUK; RAJ, 1998). Os fragmentos polipeptídicos liberados pela calpaína podem atrair e ativar neutrófilos (RAJ; BOOKER; BELCASTRO, 1998). Assim como outras vias proteolíticas, a ativação da calpaína é regulada por espécies reativas de oxigênio (EROs) (POWERS et al., 2010).

Os sintomas de DMIT podem se desenvolver lentamente após o dano, manifestando-se com intensidade máxima dentro de 24 a 96 h pós-exercício (HOWELL; CHLEBOUN; CONATSER, 1993). Os mecanismos causadores da DMIT não são ainda claros, mas parecem estar associados à permanência de elevada concentração de Ca^{2+} intracelular e/ou à resposta inflamatória local (para revisão: CHEUNG; HUME; MAXWELL, 2003).

À fase de exacerbação de danos, segue-se gradativa recuperação funcional do músculo, à medida que ocorrem os processos associados ao reequilíbrio metabólico e à recuperação/remodelamento estrutural da fibra (PAULSEN et al., 2012). O tempo para o total restabelecimento da força muscular pode variar de alguns dias a semanas pós-esforço (NEWHAM et al. 1983; SAYER; CLARKSON, 2001; CLOSE et al., 2004).

2.2.1 Respostas inflamatórias locais

O sucesso da resolução do dano muscular (i.e ótima degradação de estruturas danificadas e reconstrução tecidual) depende em parte do equilíbrio entre as sinalizações pró e anti-inflamatórias (PYNE, 1994; HUBAL et al., 2008) (Figura 1). Propõem-se que produção muscular de mediadores inflamatórios provenha de células musculares, células residentes (ex. fibroblastos, macrófagos e células satélites) e endotélio vascular local (TIDBALL, 1995; SMITH et al., 2000; HUBAL et al., 2008). Neutrófilos e monócitos/macrófagos que migram para as áreas afetadas podem contribuir para a produção de fatores inflamatórios (PYNE, 1994; TIDBALL, 1995). Ressalta-se que o controle da expressão de vários agentes inflamatórios no músculo, bem como em células imunológicas é em parte mediado por sinalizações que sofrem regulação redox, como vias de MAPKs (*mitogen-activated protein kinases*) e do NF- κ B (*factor nuclear kappa B*) (LU; WAHL, 2005; HUANG; WU; YEN, 2006; SIGAL et al., 2011).

Após o dano muscular excêntrico, iniciam-se respostas inflamatórias locais, predominantemente pró-inflamatórias (PEAKE; NOSAKA; SUZUKI, 2005) (Figura 1). Por exemplo, aumentos na expressão muscular de fatores quimiotáticos para neutrófilos e

monócitos; de cicloxigenase 2 (COX-2) e das citocinas interleucina (IL)-6, fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e IL-1 β foram observados dentro de 24 h pós-exercício excêntrico (MALM et al., 2000; AOI et al., 2004; BUFORD et al., 2009; LIAO et al. 2010). Paradoxalmente, embora possam desempenhar ações inflamatórias, a ocorrência de concentração muscular elevada e prolongada de certos mediadores, como a IL-1 β e o TNF- α , também sugere a sua participação nos processos de regeneração tecidual (TIDBALL; VILLATA, 2010). A IL-1 β e o TNF- α são produzidos por neutrófilos e, principalmente, monócitos/macrófagos, além de outros tipos celulares (para revisão: CURFS; MEIS; HOOBKAMP-KORTANJE, 1997; CAVAILLON, 1994). No músculo esquelético, a IL-1 β e o TNF- α participam de processos da reparação após o dano tecidual (ex. catabolismo protéico), com provável envolvimento das vias NF- κ B e MAPK p38 (LI et al., 2003; 2009).

O aumento na expressão muscular de IL-1 β e de TNF- α , no pós-exercício excêntrico, pode acompanhar o decurso da degradação protéica que antecede a regeneração muscular (CANNON et al., 1991; HAMADA et al., 2005; LIAO et al., 2010). Relatou-se significativo aumento no catabolismo protéico miofibrilar, 5-14 dias após o dano muscular excêntrico, o que não afetou a recuperação funcional muscular (INGALLS; WARREN; ARMSTRONG, 1998). Além disto, concentração elevada de IL-1 β foi encontrada no músculo cinco dias após corrida em declive (-16% de inclinação; 45 min) (FIELDING et al., 1993). Empregando esse mesmo protocolo de corrida, Cannon et al. (1991) encontraram correlação positiva entre a secreção *in vitro* de IL-1 β por células mononucleares e a concentração urinária do marcador de proteólise muscular, 3-metil histidina, durante 12 dias de observação. Hamada et al. (2005), relataram significativa elevação na expressão muscular de RNAm para TNF- α em 72 h após uma corrida, realizada conforme o protocolo usado por Fielding et al. (1993).

O músculo esquelético parece ser a fonte primária da expressão/liberação de IL-6 em resposta ao esforço (PEDERSEN; FEBBRAIO, 2008). Embora tenha ações inflamatórias (JIANG et al., 1994; STEENBERG et al., 2003) a importância do aumento na produção de IL-6 em resposta ao exercício tem sido associada, principalmente, a seus efeitos metabólicos e anti-inflamatórios (PETERSEN; PEDERSEN, 2006). Importa ressaltar que a ação muscular *per se* pode induzir a produção de IL-6 por miócitos,

independentemente da ocorrência de dano tecidual (JONSDOTTIR et al., 2000).

A IL-6 estimula a produção hepática de proteínas da fase aguda, tal como a proteína C-reativa (PCR) e induz a ativação de neutrófilos (JIANG et al., 1994; STEENSBERG et al., 2003), e, por outro lado, inibe a produção de IL-1 e de TNF- α por monócitos ativados e estimula a liberação de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, por exemplo (SCHINDLER et al., 1990; STEENSBERG et al., 2003).

A IL-10 possui inúmeros efeitos anti-inflamatórios e imunomodulatórios, sendo liberada por monócitos/macrófagos e outras células (MOCELLIN et al., 2003), em resposta a diferentes estímulos – além da IL-6 –, tais como lipopolissacarídeos bacterianos (LPS), citocinas inflamatórias (por exemplo, TNF- α), PGE₂ e glicocorticóides (DE WAAL MALEFYT et al., 1991; STEENSBERG et al., 2003; EDWARDS; EMENS, 2010). Em neutrófilos e monócitos/macrófagos ativados, a IL-10 inibiu a síntese das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , fator estimulante de colônia de granulócitos (G-CSF) e fator estimulante de colônia de granulócitos/monócitos (GM-CSF), por meio da degradação de RNAm e inibição do NF- κ B (WANG et al., 1994a; 1994b; 1995; KASAMA et al., 1994).

O início de progressiva infiltração muscular de células fagocitárias pode ser detectado no músculo nas primeiras horas pós-exercício excêntrico (FIELDING et al. 1993), sugerindo imediata resposta ao dano muscular excêntrico. Há relatos da presença de neutrófilos, monócitos/macrófagos e linfócitos no músculo esquelético, particularmente, no interior das fibras, entre as bainhas de tecido conectivo e/ou aderidos à parede luminal de microvasos locais (MAHONEY et al., 2008; PAULSEN et al., 2010; 2013) (Figuras 2 C-F). Por exemplo, Fielding et al. (1993) relataram que acúmulo muscular de neutrófilos foi positivamente associado com percentual de danos na linha Z, em indivíduos submetidos a protocolo de exercício excêntrico em esteira (-16% de inclinação).

Os neutrófilos representam a primeira população de leucócitos a chegar à área muscular afetada, onde se acumulam em elevado número dentro de 2 h após o dano, atingem o pico em 6-24 h e, em seguida, mostram um rápido declínio (MacINTYRE et al., 1996; 2000; 2001; TIDBALL; BERCHENKO; FRENETTE, 1999; TIDBALL; VILLALTA, 2010). No entanto, Fielding et al. (1993) relataram ter observado significativa quantidade de neutrófilos no músculo cinco dias pós-exercício excêntrico. A atração de fagócitos para o sítio inflamatório

poderia ser mediada por fatores quimioatraentes, produzidos pelo endotélio vascular e por células imunológicas (BUTTERFIELD; BEST; MERRICK, 2006), fragmentos polipeptídicos liberados por calpaínas (RAJ; BOOKER; BELCASTRO, 1998) e produtos da proteólise da matriz extracelular (CZOP et al., 1981). Os neutrófilos ativados podem identificar, fagocitar e digerir debris celulares, bem como partículas opsonizadas, utilizando-se da liberação de moléculas citolíticas e citotóxicas, no interior de fagossomos e no ambiente extracelular (para revisão: LEE; HARRISON; GRINSTEIN, 2003; TIDBALL, 2005).

Entretanto, importa esclarecer que há controvérsias quanto à participação de neutrófilos no dano muscular esquelético induzido pelo exercício (LOWE et al., 1995; LAPOINTE; FRENETTE; CÔTÉ, 2002; SCHNEIDER; THIDUS, 2007; PAULSEN et al., 2013). Em recente estudo, Paulsen et al. (2013) identificaram macrófagos – que se encontravam em maior número –, e, possivelmente, linfócitos como sendo as principais classes de leucócitos presentes no músculo esquelético (endomísio e sarcoplasma) em 1 h e 2, 4 e 7 dias após a realização de 70 ações excêntricas unilaterais com os músculos flexores do cotovelo. Os neutrófilos foram observados em quantidade muito pequena e, frequentemente, dentro de capilares ou de vasos, aderidos à parede de microvasos ou em coágulos sanguíneos. Além disso, o número de biópsias com identificação positiva para neutrófilos foi relativamente baixo (~28%). Os autores concluíram que neutrófilos não estão envolvidos no dano da fibra muscular induzido pelo exercício.

Contudo, é possível que aspectos metodológicos também justifiquem as discordâncias entre as pesquisas. Por exemplo, segundo Paulsen et al. (2013), o emprego de um marcador específico para granulócitos (i.e. anticorpo monoclonal CD66) parece ser mais apropriado para a localização de neutrófilos no músculo esquelético humano do que os outros marcadores (i.e. atividades da mieloperoxidase (MPO) e da elastase e anticorpos CD11b e CD16) utilizados nos estudos que relataram significativas concentrações musculares de neutrófilos após o exercício.

Não obstante, conforme propuseram Tidball e Villalta (2010), após o dano, o número de neutrófilos no músculo aumenta dentro de 2 h, alcançando valores máximos em 6-24 h, e, em seguida, diminui rapidamente. Assim sendo, no estudo de Paulsen et al. (2013), as biópsias musculares (1 h e 2, 4 e 7 dias pós-esforço), aparentemente, foram feitas fora da janela de tempo (i.e. 2-24 h pós-dano) para o acúmulo significativo de neutrófilos (TIDBALL; VILLALTA, 2010), o que, em parte, poderia explicar o pequeno número dessas células no

músculo exercitado. Portanto, o não envolvimento de neutrófilos em eventos musculares decorrentes do dano muscular excêntrico parece não estar ainda totalmente claro.

Logo após o início da infiltração muscular de neutrófilos, segue-se aumento gradativo no número de monócitos/macrófagos (TIDBALL; VILLALTA, 2010). Importante quantidade muscular de macrófagos pode ser vista 24-96 h pós-exercício excêntrico (HELLSTEN et al., 1997; PAULSEN et al., 2010; 2013), podendo se prolongar por até 7 ou 20 dias (JONES et al., 1986; CHILD et al., 1999). Inicialmente, elevou-se o número de macrófagos do fenótipo M1 (FRENETTE; CAI; TIDBALL, 2000). Essas células exibem propriedades fagocitárias e liberam mediadores inflamatórios (ex. IL-1 β e prostaglandina E₂ (PGE₂)), bem como óxido nítrico (\bullet NO), uma espécie reativa de nitrogênio (ERN) (LAPOINTE; FRENETTE; CÔTÉ, 2001; NGUYEN; TIDBALL, 2003a; 2003b; 2003c; ARNOLD et al., 2007). Macrófagos do fenótipo M2 são encontrados em quantidades elevadas a partir de 24 h do dano muscular, próximo ao acúmulo máximo de macrófagos M1 (ARNOLD et al., 2007). Tidball (1995) sugeriu que os macrófagos M2 já seriam residentes no músculo anteriormente ao dano, ou resultariam da conversão do fenótipo M1 (ARNOLD et al., 2007). O estímulo para a transição de M1 para M2 parece depender do macrófago M1 fagocitar produtos da lise efetuada por neutrófilos, em processo regulado pela IL-10 (DENG et al., 2012). Os macrófagos M2 não realizam fagocitose, porém secretam citocinas anti-inflamatórias, incluindo a IL-10, e parecem estar envolvidos em processos da regeneração muscular (para revisão: TIDBALL; VILLALTA, 2010).

2.2.2 Influência da resposta inflamatória no dano muscular secundário

Tem sido demonstrado que a magnitude do acúmulo de células inflamatórias no músculo após o dano muscular excêntrico está positivamente associada à interrupção ou ao retardo na recuperação na capacidade de produção de força muscular (RAASTAD et al., 2003; PAULSEN et al., 2010). Conquanto haja opiniões contrárias (MALM et al., 2004; 2012), supõe-se que o dano muscular tardio, em parte, resultaria de atividades inflamatórias de fagócitos infiltrados no músculo danificado. O envolvimento de neutrófilos e/ou macrófagos no retardo da recuperação na força muscular após o dano muscular excêntrico foi demonstrado em estudos em animais, empregando-se alongamento *in situ* (ZERBA; KOMOROWSKI; FAULKNER, 1990; LAPOINTE;

FRENETTE; CÔTÉ, 2001; PIZZA et al., 2005) e em seres humanos (MacINTYRE et al., 1996; 2001). Foi proposto que certos produtos do metabolismo dessas células, incluindo EROs/ERNs, proteases e LOXs eventualmente atingem estruturas intactas e, assim, contribuem para a exacerbação dos danos teciduais e redução na força muscular (PYNE, 1994; MacINTYRE et al., 1996; BEATON et al., 2002; BRICKSON et al., 2003; TOUMI; F'GUYER; BEST, 2006). Além de danos oxidativos, as EROs podem modular a expressão gênica e a ação de mediadores inflamatórios (PETRONE et al., 1980; AOI et al., 2004). A liberação de citocinas pró-inflamatórias por essas células podem também contribuir com a amplificação do dano (SMITH, 2008).

Alterações na ativação nervosa central, induzidas por mediadores inflamatórios, influenciam na função muscular pós-exercício excêntrico (MARQUESTE et al., 2004; MARTIN et al., 2009; CARMICHAEL et al., 2010). É proposto que a produção de mediadores inflamatórios no músculo – como, por exemplo, derivados do ácido araquidônico –, em resposta ao dano muscular excêntrico, deflagra uma resposta sensorial, por meio de fibras aferentes do grupo IV, resultando em redução na ativação muscular voluntária subsequente (MARQUESTE et al., 2004). Observou-se associação entre o aumento na concentração de IL-1 β no cérebro e a fadiga em esforço, 24 h pós-exercício excêntrico. Existem evidências de que a citocina proveio de populações de macrófagos, localizados em regiões cerebrais, perivascular e meningeal (CARMICHAEL et al., 2010). Em conjunto, esses resultados sugerem a existência de diferentes mecanismos, além de "danos estruturais adicionais", por meio dos quais as atividades inflamatórias de fagócitos poderiam influenciar a recuperação da força após o dano muscular excêntrico.

Por outro lado, argumenta-se que o acúmulo de leucócitos no músculo poderia "simplesmente refletir o grau de dano muscular e a necessidade de regeneração" (PAULSEN et al., 2010). A demora na recuperação da força muscular estaria associada ao decurso dos processos indispensáveis para a resolução do dano e remodelamento muscular (PAULSEN et al., 2013).

2.2.3 Aspectos funcionais de neutrófilos, com ênfase na integrina β_2 Mac-1

A entrada de leucócitos no sítio inflamatório depende de uma série coordenada de eventos moleculares e biofísicos, que incluem: captura, rolamento, rolamento lento, aprisionamento, adesão firme,

espraiamento, rastejamento e transmigração celular (para revisão: LEY et al., 2007). Nesse processo multietapas, destaca-se um evento de crucial importância: a ativação de integrinas β_2 (HAKKERT et al., 1991).

As integrinas compreendem uma família de receptores de adesão que atuam em interações célula-célula, célula-matriz extracelular e célula-patógeno. Consistem em glicoproteínas transmembranas de superfície que se ligam às proteínas do citoesqueleto e são formadas por duas cadeias heterodiméricas – α e β –, ligadas não covalentemente (para revisão: HYNES, 1992) (Figura 3). As integrinas β_2 , por exemplo, reúnem quatro membros: CD11a, CD11b, CD11c e CD11d/CD18. A integrina $\alpha_M\beta_2$ ou Mac-1 (*Macrophage antigen-1*), receptor do complemento 3 (CR3) ou CD11b/CD18, em especial, é expressa na superfície de neutrófilos, monócitos, macrófagos e células *natural killers* e possui vários ligantes, incluindo a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1; CD54), o colágeno, a fibronectina e o fragmento do complemento C3, C3bi (para revisão: HYNES, 1992; SPRINGER; WANG, 2004; LUO et al., 2007).

Em neutrófilos, em particular, a Mac-1 é a principal integrina β_2 responsável pela adesão firme da célula ao endotélio vascular, além de mediar outros importantes processos, como a degranulação e a produção de EROs (ou *burst* oxidativo) (ANDERSON; SPRINGER, 1987; LEFER; LEFER, 1996). Os mecanismos moleculares que controlam os eventos dependentes de integrinas β_2 são complexos e não totalmente elucidados (ZARBOCK; LEY, 2011), e parecem ser regulados por EROs, assim como a ativação e a expressão gênica de integrinas β_2 (HUANG; WU; YEN, 2006; SHEN; SUNG; CHEN, 1998).

A adesividade e a atividade da Mac-1 são estimuladas por diversos fatores inflamatórios, tais como, quimiocinas, TNF- α e IL-8 (CONDLIFFE et al., 1996; JONES et al., 1998). Os processos regulatórios que partem da superfície celular, por meio de receptores, até os domínios citoplasmáticos da integrina, são conhecidos como sinalizações *inside-out* (LUB; VAN KOOYK; FIGDOR, 1995). A força de adesividade (avidéz) da integrina ao ligante é influenciada por dois fatores principais: afinidade e valência (VAN KOOYK; FIGDOR; 2000; LUO, 2007) (Figura 3). A afinidade da integrina por seu ligante é dependente de mudanças reversíveis na conformação de suas subunidades α e β (LUO, 2007). A valência refere-se à densidade de integrina por área de adesão, e é particularmente influenciada por sua habilidade de movimentação lateral, levando à formação de

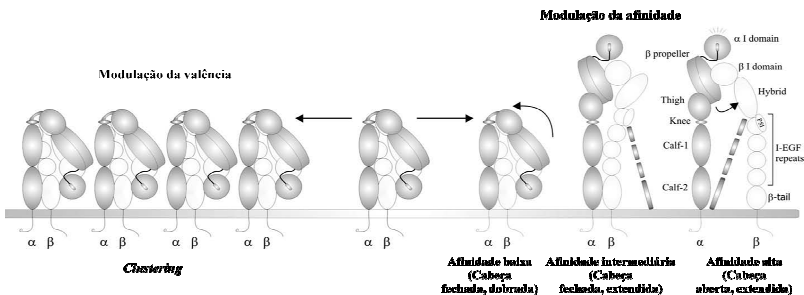
grupamentos (*clusters*) (VAN KOOYK; FIGDOR; 2000; KIM et al., 2004). Outro fator determinante da valência é a quantidade de integrinas expressas na superfície da membrana (LEY et al., 2007).

A adesão firme da integrina de alta afinidade ao ligante em superfícies intra ou extravascular (NATHAN, 1987) resulta na transdução de sinais a partir de seus domínios extracelulares para o citoplasma, por meio da sinalização *outside-in* (LUB; VAN KOOYK; FIGDOR, 1995). Em neutrófilos, a adesão da Mac-1 deflagra sinalizações que regulam, por exemplo, a migração, a fagocitose, a degranulação e o *burst* oxidativo (SCHYMEINSKY; MÓCSAI; WALZOG, 2007). As vias moleculares ativadas, bem como o tipo e a intensidade das respostas produzidas, dependerão da natureza do estímulo inflamatório (SUZUKI et al., 1999b; KAMATA et al., 2004).

Dentre as funções de neutrófilos mediadas por integrinas β_2 de provável importância no dano muscular excêntrico, estão a degranulação e o *burst* oxidativo (PEAKE, 2002).

A degranulação – i.e. exocitose de grânulos e vesículas secretórias – é um evento chave para várias respostas do neutrófilo, desde a ativação celular até a eliminação de partículas fagocitadas (HÄGER; COWLAND; BORREGAARD, 2010). A formação dos grânulos ocorre sequencialmente durante a diferenciação da célula mielóide. Os primeiros grânulos formados são os azurófilos (mieloblastos e protomielócitos), seguidos dos grânulos específicos (mielócitos e metamielócitos), grânulos gelatinase (células em bastão) e das vesículas secretórias (células segmentadas) (FAURSCHOU; BJERREGAARD et al., 2003).

Figura 3 - Modulações na valência e na afinidade da integrina.



Fonte: Gahmberg et al. (2009).

Os grânulos azurófilos são ricos em proteínas antimicrobidas, como a elastase e a MPO (BRETZ; BAGGIOLINI, 1974; HALON et al., 1991); os grânulos específicos contêm, por exemplo, metaloproteases, receptores de membrana e citocromo b_{558} (BAINTON, 1973; BORREGAARD et al., 1983); e os grânulos gelatinase são ricos em gelatinase, receptores de membrana e citocromo b_{558} (KJELDTSEN et al., 1994). As vesículas secretórias são de origem endocítica e contêm proteínas plasmáticas, fosfatase alcalina, citocromo b_{558} e receptores de membrana (CALAFAT et al., 1993; SENDELØV, 1993). Os grânulos específicos e, principalmente, os grânulos gelatinase e as vesículas secretórias são ricos em Mac-1 (SENDELØV et al., 1993).

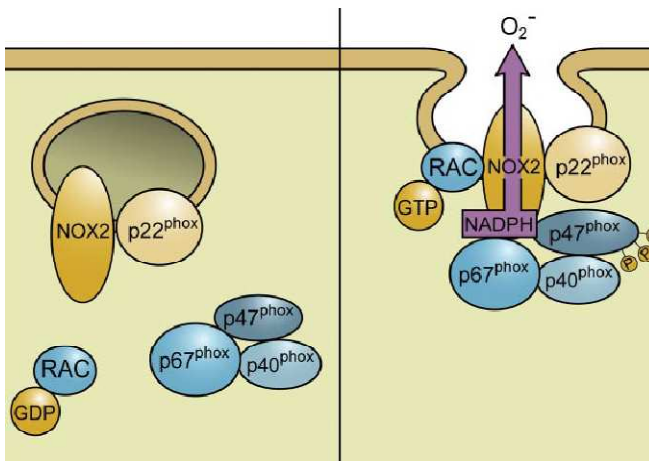
Os grânulos são mobilizados do citoplasma, fundem-se à membrana plasmática e liberam seu conteúdo no fagossomo e no ambiente extracelular (LEFFELL; SPITZNAGEL, 1974). Esta mobilização se dá na seguinte ordem hierárquica: vesículas secretórias, grânulos gelatinase, grânulos específicos e, por fim, grânulos azurófilos, cuja liberação parece exigir agonistas potentes (SENDELØV et al., 1995). Para Faurschou e Borregaard (2003), durante a transmigração do neutrófilo, as metaloproteases liberadas por grânulos gelatinase têm importante papel na degradação da membrana basal vascular. Ao longo de sua infiltração no interstício, a exocitose parcial de grânulos específicos e azurófilos promovem a expressão de receptores para componentes de matriz extracelular e a liberação de enzimas que degradam a matriz extracelular, facilitando, assim, o deslocamento do fagócito. No sítio inflamatório, a liberação de grânulos azurófilos e específicos leva à ativação de sistemas dependentes e independentes de oxigênio, contribuindo para a eliminação de partículas.

O *burst* oxidativo é mediado pelo sistema enzimático NADPH-oxidase (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo fosfato) (CROSS; PARKINSON; JONES, 1984). A NADPH-oxidase presente em fagócitos é, em parte, formada por um heterodímero associado à membrana, o citocromo b_{558} , que é constituído das subunidades $gp91^{phox}$ (ou NOX2) e $p22^{phox}$. A $gp91^{phox}$ pertence à família de proteínas NOX e representa a subunidade catalítica transportadora de elétrons da NADPH-oxidase. Em neutrófilos inativos, o citocromo b_{558} se localiza no interior de grânulos e, com a ativação celular e a degranulação, é incorporado à membrana plasmática. Ao citocromo b_{558} , associam-se os componentes citoplasmáticos $p47^{phox}$, $p67^{phox}$, $p40^{phox}$ e a Rac GTP (ras: *ras-related C3 botulinum toxin substrate*; GTP: guanosina trifosfato). No processo do *burst* oxidativo, a NADPH-oxidase transporta elétrons do NADPH citosólico, os quais serão aceitos por oxigênio extracelular

ou do fagossomo, resultando na geração do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) (para revisão: GROEMPING; RITTINGER, 2005; BEDARD; KRAUSE, 2007) (Figura 4). Neste processo, destaca-se a importância da $p47^{phox}$ como "subunidade organizadora" do recrutamento das outras subunidades citoplasmáticas. A fosforilação da $p47^{phox}$ leva a mudanças na sua conformação, que promovem a sua interação com a $p22^{phox}$ e a reunião das subunidades $p67^{phox}$ e $p40^{phox}$ ao complexo NADPH-oxidase (BEDARD; KRAUSE, 2007).

Uma vez formado, o $O_2^{\bullet-}$ pode ser convertido pela enzima superóxido dismutase (SOD) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (McCORD; FRIDOVICH, 1969), o qual, em presença de cloreto, forma ácido hipocloroso (HOCl) por meio do sistema MPO- H_2O_2 -Cl (HARRISON; SCHULTZ, 1976). O HOCl é uma potente espécie reativa que faz parte do conjunto de moléculas citolíticas de neutrófilos ativados (SLIVKA; LOBUGLIO; WEISS, 1980). O HOCl pode ainda reagir com o $O_2^{\bullet-}$ para formar o radical hidroxila ($\bullet OH$) (RAMOS; POU; ROSEN, 1995). Além disso, o H_2O_2 pode reagir com metal de transição (ex. ferro catalítico, Fe^{2+}), levando à formação de $\bullet OH$ (reação de Fenton) (WINTERBOURN, 1995).

Figura 4 - Reunião das subunidades da NADPH-oxidase na membrana seguida da produção de superóxido.



2.3 PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DEFESA ANTIOXIDANTE

Os radicais livres primariamente formados no músculo esquelético são o O_2^{\bullet} e o $\bullet NO$, a partir dos quais derivam outras EROs e ERN, respectivamente (POWERS; JACKSON, 2008). Conquanto existam diferentes potenciais sítios de geração de EROs/ERNs no músculo esquelético (JACKSON; PYE; PALOMERO, 2007), considera-se que durante o exercício excêntrico, em razão de baixa demanda de oxigênio (LASTAYO et al., 1999), haja apenas um ligeiro aumento na produção de espécies reativas, que pouco influenciaria no dano muscular excêntrico (NIKOLAIDIS et al., 2008). Por outro lado, na fase de recuperação, algumas das fontes musculares de EROS/ERNs podem contribuir para os danos musculares secundários, diretamente ou comprometendo o equilíbrio redox muscular (MICHAILEDIS et al., 2013).

Conforme descrito acima, o complexo NADPH-oxidase é a fonte primária de O_2^{\bullet} em fagócitos ativados cuja produção pode levar à formação de outras espécies reativas, como o H_2O_2 e o HOCl (BABIOR; LAMBERTH; NAUSSEF, 2002). Na inflamação, o O_2^{\bullet} produzido por neutrófilos pode aumentar a liberação de ferro catalítico de proteínas, como a ferritina e a hemoglobina. Childs et al. (2001) relataram elevação na concentração sérica de ferro livre no período pós-exercício excêntrico. Além disso, foi sugerido que a maior parte da lise da membrana após o dano muscular decorreu de eventos mediados por O_2^{\bullet} liberado por neutrófilos (NGUYEN; TIDBALL, 2003c).

Outra fonte muscular de EROs é a enzima xantina oxidase (XO). Esta enzima é uma flavoproteína molibidênio hidrolase que catalisa a oxidação da hipoxantina em xantina e, dessa, em ácido úrico, resultando na formação de O_2^{\bullet} . A XO é formada pela clivagem da sua isoforma xantina desidrogenase (XDH) (para revisão: PRITSOS, 2000). A conversão de XDH em XO pode ser estimulada por proteases dependentes de Ca^{2+} , componentes da cascata do complemento e IL-6 (CHAMBERS et al., 1985; FRIEDL et al., 1989; PAGE et al., 1998). No músculo esquelético, a XO está localizada principalmente no endotélio microvascular (HELLSTEN et al., 1997) e a expressão da XO parece aumentar em resposta ao dano muscular excêntrico. Hellsten et al. (1997) relataram maior imunorreatividade à XO em células endoteliais e leucócitos acumulados no músculo, no período de 24 a 96 h pós-exercício excêntrico máximo em bicicleta. Dessa forma, os autores

consideraram que a XO pode contribuir com a geração de EROs durante eventos inflamatórios secundários no pós-esforço.

O músculo esquelético de mamíferos expressa as quatro isoformas da enzima óxido nítrico sintase (NOS): NOS endotelial (eNOS), NOS mitocondrial (mNOS), NOS neuronal (nNOS) e NOS indutiva (iNOS), sendo as duas últimas as isoformas predominantes (para revisão: GHAFOURIFAR; CADENAS, 2005; MEISSNER, 2010). A nNOS encontra-se associada ao citoesqueleto e ao sarcolema (LAY et al., 2009). O $\bullet\text{NO}$ produzido pela nNOS parece estar envolvido na regulação da contratilidade, por meio da estimulação de canais de liberação de Ca^{2+} /receptor rianodina 1 (RyR1) (EU et al., 2003), ao passo que o $\bullet\text{NO}$ liberado das reações catalisadas pelas eNOS e nNOS contribui no controle do fluxo sanguíneo muscular (GRANGE et al., 2001). O $\bullet\text{NO}$ produzido pela iNOS participa de processos de reparação e regeneração do dano muscular (para revisão: ANDERSON, 2000), estando envolvido no controle da expressão de fatores reguladores da miogênese (SAKURAI et al., 2013) e na modulação da inflamação (para revisão: TIDBALL, 2005). No dano muscular, o $\bullet\text{NO}$ produzido por leucócitos via iNOS, contribui com o *cleareance* de debris celulares, mas pode estar também envolvido na promoção de dano celular (NGUYEN; TIDBALL, 2003a; 2003b; 2003c).

Além dessas fontes de espécies reativas, há evidências de que a fibra muscular possui propriedades intrínsecas que favorecem a produção de $\text{O}_2\bullet^-$ e a geração/emissão de H_2O_2 mitocondriais, inclusive em fibras sem expressivo número de mitocôndrias (i.e. fibras do tipo IIb ou tipo IIx, em seres humanos) (ANDERSON; NEUFER, 2006). Em animais, as fibras do tipo II, principalmente as do tipo IIb, apesar de terem menor capacidade respiratória, mostraram maior taxa de formação mitocondrial de H_2O_2 , basal e máxima, em comparação às fibras do tipo I, além de menor capacidade de remoção de H_2O_2 , sugerindo que as fibras tipo II sejam menos eficientes na detoxificação mitocondrial de EROs (ANDERSON; NEUFER, 2006). Vale notar que certos protocolos de exercícios podem causar importante dano muscular excêntrico, preferencialmente em fibras tipo II, resultando em sobrecarga mitocondrial de Ca^{2+} e no conseqüente intumescimento dessa organela (MACALUSO; ISAAC; MYBURGH, 2012). A sobrecarga de Ca^{2+} pode elevar a produção mitocondrial de EROs (GISSEL, 2005). Portanto, em conjunto, esses resultados sugerem que no período pós-exercício excêntrico, as mitocôndrias das fibras tipo II sejam mais suscetíveis ao estresse oxidativo (QUINDRY et al. 2011), especialmente

em condições de desequilíbrio redox muscular (MICHAELIDIS et al., 2013).

Em condições fisiológicas, o organismo dispõe de um integrado sistema de defesa antioxidante, que inclui elementos enzimáticos e não enzimáticos (MACHLIN; BENDICH, 1987). Dentre as enzimas antioxidantes de relevância no exercício excêntrico, destacam-se a superóxido dismutase (SOD), a catalase, a glutatona peroxidase (GPx) e a glutatona redutase (GR). A SOD ocorre nas isoformas cobre/zinco-dependente e manganês-dependente. Ambas as isoformas da SOD catalisam a dismutação do $O_2^{\bullet -}$ a H_2O_2 (McCORD; FRIDOVICH, 1969; KEELE; McCORD; FRIDOVICH, 1970). A catalase promove a conversão do H_2O_2 em H_2O e O_2 . (WINTERNITZ; MELOY, 1908). A GPx catalisa a redução de H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos, usando a glutatona reduzida (GSH; γ -glutamil-cisteína-glicina) como doador de elétrons, e com formação de glutatona oxidada (GSSG) e H_2O . A GR catalisa a reação de regeneração de GSH a partir de GSSG, com elétrons fornecidos pelo NADPH (COHEN; HOCHSTEIN, 1963).

Os antioxidantes não enzimáticos interagem com as espécies reativas em ambientes intra e extracelulares. Neste grupo, encontram-se, por exemplo, os antioxidantes endógenos, bilirrubina, ácido úrico e GSH. A bilirrubina é um produto final do catabolismo do grupamento heme e é considerado um excelente antioxidante contra a peroxidação lipídica e o H_2O_2 (STOCKER et al., 1987; BARAÑANO et al., 2002). O ácido úrico, um produto final do catabolismo de purinas, inibe a lipoperoxidação e neutraliza o $\bullet OH$, o HOCl e o ferro reativo (AMES et al., 1981; DAVIES et al., 1986; KAUR; HALLIWELL, 1990). A GSH é o composto tiol de baixo peso molecular mais abundante em células eucarióticas (JI; FU, 1992; YU, 1994). Seu grupo tiol reativo lhe confere efetiva propriedade redutora, permitindo interagir com diversas moléculas reativas, tais como $O_2^{\bullet -}$, $\bullet OH$, H_2O_2 e hidroperóxidos lipídicos, bem como participar no processo de regeneração da vitamina C (JI; FU, 1992; YU, 1994). O sistema GSH/GPx/GR desempenha importante papel na eliminação de hidroperóxidos nas membranas celulares e na prevenção de oxidações mediadas pelo peroxinitrito (THOMAS et al., 1990; SIES et al., 1997). A regeneração da GSH favorece a manutenção de concentração intracelular de GSH intracelular elevada, em comparação à de GSSG (JI; FU, 1992).

Compõem ainda o grupo de antioxidantes não enzimáticos vários constituintes dietéticos, como as vitaminas A, E e C; os minerais zinco, cobre, selênio, magnésio e manganês (MACHLIN; BENDICH, 1987); e

uma diversidade de compostos bioativos de vegetais (fitoquímicos), incluindo os compostos fenólicos (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 1995). No Brasil, uma importante fonte natural de compostos fenólicos e sais minerais é a erva mate (descrição no item 2.8).

2.3.1 Modificações oxidativas e sinalização para a produção de força muscular

As modificações oxidativas, bem como as alterações na sinalização redox, promovidas por espécies reativas podem resultar em efeitos biológicos tanto benéficos como prejudiciais (NIKOLAIDIS et al., 2012). As espécies reativas atuam como sinalizadores em processos celulares, que integram respostas adaptativas ao exercício imediatas e em longo prazo (JACKSON; PYE; PALOMERO, 2007; POWER et al., 2010). Entretanto, dependendo da magnitude e da duração, o estresse oxidativo pode prejudicar o metabolismo e a fisiologia celular, inclusive no músculo esquelético (COOMBS et al., 2002; WATSON et al., 2005).

Por exemplo, embora certas ações fisiológicas das EROs/ERNs no músculo esquelético favoreçam a produção de força, a oxidação excessiva em estruturas celulares críticas nos processos de acoplamento E-C pode diminuir a performance muscular (FERREIRA; REID, 2008). Existem evidências de que o comprometimento no acoplamento E-C após o exercício excêntrico decorre de mecanismos mediados por modificações pós-traducionais, incluindo oxidativas, no receptor RyR1 e/ou em suas proteínas auxiliares (i.e. FKBP12 (*FK506-binding protein* ou calstabin 1) e junctofilinas JP1 e JP2), prejudicando, assim, a liberação de Ca^{2+} induzida por despolarização e, conseqüentemente, a força muscular (INGALLS et al., 2004; CORONA et al., 2010; BAUMANN et al., 2014).

Os canais de liberação de Ca^{2+} /RyR1 do retículo sarcoplasmático consistem em grandes homotetrâmeros localizados em sítios juncionais, opostamente ao túbulo T, onde se relaciona com tétrades de DHPR (para revisão: BARONE et al., 2015). Na tríade, proteínas acessórias interagem com os receptores DHPR e/ou RyR1 e contribuem na regulação da ativação do canal ("*gating*"). Dentre essas proteínas acessórias estão, por exemplo, a calmodulina (CaM), a FKBP12 e as junctofilinas JP1 e JP2 (BRILLANTES et al., 1994; ARACENA et al., 2005; BALOG, 2010). A calmodulina, na forma apoCaM (não ligada ao Ca^{2+}), aumenta atividade do RyR1, ao passo que ligada ao Ca^{2+} (Ca²⁺-CaM), tem ação inibitória sobre o receptor (ARACENA et al., 2003; 2005). A FKBP12 estabiliza o estado fechado do RyR1, prevenindo a

ocorrência de "canais vazantes" ("*leaky channels*"), assim como, confere estabilidade ao estado aberto do receptor, favorecendo a condutância máxima e, evitando estados de subcondutância (BRILLANTES et al., 1994); e, ainda, coordena o fechamento/abertura entre RyR1 vizinhos (MARX; ONDRIAS; MARKS, 1998). A JP1 e a JP2 são proteínas do complexo juncional que contribuem na estabilização da tríade e permitem a interação entre o DHPR e o RyR1 (TAKESHIMA et al., 2000; CORONA et al., 2010).

A modulação na atividade do RyR1, assim como sua interação com outras proteínas na tríade, em parte resulta do estado químico de seus grupos tióis (~SH) reativos (FENG et al., 2000; XIA; STANGLER; ABRAMSON, 2000; ARACENA et al., 2005; PHIMISTER et al., 2007). O RYR1 funciona como sensor do potencial redox transmembrana que, por meio de grupos tióis específicos, regula a atividade do canal, em resposta a diferenças no potencial redox produzido pela glutathiona citoplasmática e luminal (FENG et al., 2000). Há evidências de que o RyR1 medeia o transporte de GSH e de GSSG através da membrana do retículo sarcoplasmático no músculo esquelético, e que isto está envolvido no controle de gradientes de potencial redox local compatíveis com a regulação redox da liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (i.e. um potencial redox, luminal e citoplasmático, mais oxidante é consistente com maior probabilidade de abertura do canal) (FENG et al., 2000; XIA; STANGLER; ABRAMSON, 2000; BÁNHEGYI et al., 2003).

Em geral, a reatividade de grupos tióis do RyR1 a EROs, GSSG ou NO^\bullet , por exemplo, resulta na ativação do receptor. Nitrosilação e/ou S-glutathionilação de grupos tióis de resíduos de cisteína, mediadas por NO^\bullet e GSSG, respectivamente, no RyR1, aumentam a probabilidade de abertura do canal de Ca^{2+} (SUN et al., 2003; ARACENA et al., 2005; PHIMISTER et al., 2007). Por outro lado, agentes redutores, como a GSH, levam à inibição do receptor (ZABLE; FAVERO; ABRAMSON, 1997; SUN et al. 2003; ARACENA et al., 2005).

A S-nitrosilação de um único resíduo de cisteína (Cys-3635) no RyR1 diminui a afinidade de ligação da FKBP12, bem como de ambas as formas da calmodulina, ao receptor (SUN et al., 2003; ARACENA et al., 2005). A S-glutathionilação mediada por GSSG parece interferir na ligação das formas de calmodulina ao RyR1 e diminuir o efeito inibitório do Mg^{2+} na ativação do RyR1, mas não altera a interação entre FKBP12 e RyR1 (SUN et al., 2003; ARACENA et al., 2005). Além disso, a estabilidade dependente da conformação entre a JP1 e o RyR1

parece ser mediada por grupos ~SH reativos presentes em ambas as proteínas, o que poderia contribuir nas propriedades redox-sensíveis no complexo RyR1 (PHIMISTER et al., 2003). Fosforilações no RyR1, mediadas por proteína quinase A (PKA) ou por fosfatase P1, também, levam à abertura do canal de Ca^{2+} (MARX et al., 2001; REIKEN et al., 2003). A fosforilação de um resíduo específico de serina (S2843) no RyR1 leva à dissociação entre a FKBP12 e o receptor (REIKEN et al., 2003).

Entretanto, tem sido proposto que estados de hipernitrosilação e/ou hiperfosforilação do RyR1 no músculo esquelético podem levar à depleção de FKBP12 e ao "*leaky channel*", com consequente aumento na concentração intracelular de Ca^{2+} de repouso e prejuízo na performance muscular (REIKEN et al., 2003; BELLINGER et al., 2008; 2009). Em estudo com animais, a S-nitrosilação de fibras musculares isoladas resultou em déficit na força muscular relacionado à falha no acoplamento E-C acompanhado de elevado vazamento de Ca^{2+} através de RyRs (DUTKA et al., 2011).

2.4 MARCADORES DE DANO MUSCULAR PÓS-EXERCÍCIO

As concentrações circulantes de proteínas citosólicas, dentre as quais creatina quinase, aldolase, lactato desidrogenase, mioglobina, aspartato transaminase (AST) e alanina transaminase (ALT), têm sido utilizadas como marcadores do dano muscular excêntrico (PEAKE et al., 2005; PAULSEN et al., 2010; KANDA et al., 2014). O vazamento de proteínas citosólicas para o sangue após o exercício tem sido associado ao aumento na permeabilidade da membrana, devido à fadiga metabólica das fibras musculares; aos danos mecânicos relacionados ao exercício; aos danos causados por espécies reativas/mediadores inflamatórios liberados fagócitos infiltrados e/ou decorrentes do aumento na concentração de Ca^{2+} intracelular (ARMSTRONG, 1990; CANNON et al., 1990; PYNE, 1994; BRANCACCIO et al., 2008). Além disto, a necrose de fibras mortas pode contribuir significativamente com o aumento na concentração de proteínas citosólicas na circulação (SORICHTER et al., 1997; PAULSEN et al., 2010). No entanto, a magnitude e o decurso dessas alterações podem ser influenciados por diferentes fatores, incluindo: o protocolo do exercício, o marcador avaliado, o estado de hidratação, a concentração extracelular de GSH, o grau de treinamento e a variabilidade intra e interindividual (SORICHTER et al., 1997; GUNST et al., 1998; WAREN; LOWE; ARMSTRONG, 1999; IDE et al., 2013). A possibilidade dessas interferências sugere, portanto, cautela na interpretação de associações

entre as concentrações de proteínas citosólicas no plasma e a dimensão do dano muscular (WAREN; LOWE; ARMSTRONG, 1999).

Ao contrário das inconsistências nas associações entre marcadores no sangue e dano muscular, a capacidade de geração de força parece refletir mais fidedignamente a magnitude do dano muscular após o exercício (WAREN; LOWE; ARMSTRONG, 1999; PAULSEN et al., 2012). Para a avaliação da extensão do dano muscular induzido pelo exercício, Paulsen et al. (2012) propuseram a seguinte classificação: (i) dano muscular leve — correspondente à redução na capacidade de produção de força de até 20% durante as primeiras 24 h e/ou total recuperação dentro de 48 h; (ii) dano muscular moderado — correspondente à diminuição de 20-50% na capacidade de produção de força e/ou total recuperação entre 48 h e 7 dias e; (iii) dano muscular severo — correspondente ao declínio na capacidade de geração de força acima de 50% e/ou à recuperação dessa habilidade, ultrapassando uma semana.

Tendo em vista que a recuperação da fadiga metabólica na redução da força muscular já esteja completa dentro de 1 a 2 h pós-esforço, a avaliação do comprometimento da força muscular a partir desse período poderá fornecer melhor estimativa da magnitude do dano muscular inicial (PROSKE; ALLEN, 2005). Peake et al. (2006) registraram semelhantes declínios imediatos (30-40%) na força muscular isométrica máxima, após dois diferentes protocolos de exercícios excêntricos, um submáximo (10 séries; 60 repetições; 10% da força isométrica máxima) e outro máximo (10 séries; 3 repetições máximas). Porém, enquanto que no protocolo submáximo, a força muscular estava completamente recuperada 48 h após o exercício, no protocolo máximo, essa estava ainda 30% inferior à inicial, quatro dias após o esforço. Assim, de acordo com a classificação de Paulsen et al. (2012), pode-se concluir que, no estudo de Peake et al. (2006), o protocolo submáximo resultou em dano de magnitude "leve", ao passo que o protocolo máximo o grau do dano foi "moderado".

2.5 MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO PÓS-EXERCÍCIO

No que diz respeito ao dano muscular excêntrico, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos são potenciais alvos de oxidação por espécies reativas. Aumentos nas concentrações plasmáticas dos produtos da lipoperoxidação, como hidroperóxidos lipídicos, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), malondialdeído (MDA) e 8-iso prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), foram observados após o exercício excêntrico (CHILDS et al., 2001; CLOSE et al., 2004; PASCHALIS et

al., 2007). Há também relatos de alterações oxidativas em moléculas protéicas, evidenciadas, por exemplo, pela elevação pós-esforço na concentração de carbonilas protéicas no plasma (SILVA et al., 2010; THEODOROU et al., 2011) e de 3-nitrotirosina ligada à proteína no músculo (LIMA-CABELLO et al., 2010). A formação de nitrotirosina pode ser resultante da nitração de resíduos de tirosina pelo peroxinitrito (um produto da reação do $\bullet\text{NO}$ com o $\text{O}_2\bullet$) e seus derivados (ISCHIROPOULOS et al., 1992), o que parece aumentar a suscetibilidade da proteína à degradação (SOUZA et al., 2000). Verificou-se, ainda, aumento na concentração muscular de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG), um produto da oxidação do DNA, após exercícios excêntricos (RADÁK et al., 1999).

A elevação na concentração de marcadores de danos oxidativos no sangue, ou no músculo, é raramente observada nas horas imediatas (<6 h) após o esforço excêntrico (MAUGHAN et al., 1989; KON et al., 2007), o que parece apoiar a ideia de que o exercício excêntrico *per se* não leva à produção muscular relevante de espécies reativas (NIKOLAIDIS et al., 2008). Por outro lado, as concentrações de marcadores do estresse oxidativo, tanto no sangue como no músculo, podem elevar de 24 a 96 h ou até oito dias pós-esforço excêntrico (QUINDRY et al., 2011; MICHAILLIDIS et al., 2013). Ressalta-se que, além dos músculos ativos, outros órgãos como o fígado e o rim (ALESSIO et al., 2002), podem contribuir com as alterações de marcadores oxidativos no sangue após o exercício (NIKOLAIDIS et al., 2008).

Distúrbios no sistema GSH/GSSG sanguíneo e muscular foram verificados em 0-4 h e 24-96 h pós-esforço (GOLDFARB et al., 2011; PASCHALIS et al., 2007; MICHAILIDIS et al., 2013), sugerindo que os desequilíbrios no sistema GSH/GSSG iniciados imediatamente após o exercício podem permanecer por vários dias de recuperação. Em conjunto, esses achados estão de acordo com o decurso dos danos musculares tardios e da infiltração de células imunológicas após exercícios excêntricos (MacINTYRE et al., 1996; PAULSEN et al., 2010). Em contrapartida aos desequilíbrios redox, aumentos sanguíneos nas concentrações de ácido úrico e bilirubina, bem como na atividade da catalase, tem sido observados 24-96 h pós-exercício excêntrico (THEODOROU et al. 2011; MICHAILIDIS et al., 2013).

As associações entre os marcadores sanguíneos do estresse oxidativo e a progressão do dano muscular excêntrico são pouco claras. Por exemplo, a elevação de marcadores sanguíneos do estresse oxidativo esteve associada à redução na força muscular pós-exercício excêntrico

(PASCHALIS et al., 2007; NIKOLAIDIS et al., 2007). Contrariamente, há relatos de diminuição na força muscular 24-48 h depois do exercício excêntrico, enquanto as concentrações séricas de EROs e MDA estavam aumentadas somente 72 h após o esforço (CLOSE et al., 2004). Além disso, foram verificados efeitos contraditórios sobre os benefícios obtidos com a suplementação de compostos antioxidantes (i.e. micronutrientes e/ou N-acetil cisteína) contra danos estruturais ou na força muscular (THEODOROU et al., 2011; MICHAILIDIS et al., 2013). Em conjunto, esses resultados sugerem a participação de outros mecanismos, diferentes do estresse oxidativo, no comprometimento da função muscular pós-exercício excêntrico (CLOSE et al., 2004). Contudo, vale lembrar que a concentração sanguínea de um marcador específico do estresse oxidativo pode não refletir a magnitude da dinâmica de formação/remoção de espécies reativas nos tecidos (ARGÜELLES et al., 2004). Deste modo, ainda que não haja evidências de estresse oxidativo no sangue, não se pode descartar totalmente a possibilidade de que danos oxidativos (NIKOLAIDIS et al., 2007) e/ou mecanismos sensíveis à modulação redox (MARQUESTE et al., 2004) estejam influenciando na recuperação da função muscular pós-esforço excêntrico.

2.6 MARCADORES INFLAMATÓRIOS SISTÊMICOS

De modo similar a outros tipos de exercícios (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000), o exercício excêntrico pode causar diversas alterações sistêmicas transitórias, incluindo: aumento no tráfego de leucócitos no sangue (leucocitose), elevação nas concentrações plasmáticas de proteínas da inflamação e ativação de neutrófilos e monócitos circulantes (PIZZA et al., 1996; SAXTON et al., 2003; PAULSEN et al., 2005).

Vários dos mediadores liberados na circulação após o exercício excêntrico podem atuar no controle da inflamação local e na restrição da inflamação sistêmica por meio, por exemplo, da regulação na síntese de citocinas pró-inflamatórias e do estímulo à produção de proteínas anti-inflamatórias ou, ainda, da modulação na adesão e migração de células fagocitárias (PYNE, 1994; PEAKE et al., 2004; PAULSEN et al., 2005). Portanto, é importante considerar que as alterações inflamatórias sistêmicas, verificadas no pós-esforço excêntrico, podem não refletir claramente a natureza e a intensidade das respostas inflamatórias locais (NOSAKA; SUZUKI, PEAKE, 2005; PEAKE et al. 2006), embora possam estar associadas a esses fatores (PAULSEN et al., 2005).

A leucocitose após o exercício excêntrico reflete principalmente o aumento no número de neutrófilos, seguido de monócitos e de alguns subtipos de linfócitos (PIZZA et al., 1995; MALM et al., 2004). Um aspecto da leucocitose observado com frequência é o padrão bifásico de resposta, com uma segunda e sustentada elevação no número de neutrófilos e de monócitos, que geralmente se inicia dentro de 1-3 h pós-exercício (McCARTHY et al., 1992; SAXTON et al., 2003; PAULSEN et al., 2005).

A leucocitose imediata ao exercício decorre principalmente da demarginação de neutrófilos segmentados (maduros) e de monócitos aderidos ao endotélio vascular, mediada pelo estresse hemodinâmico e por catecolaminas (McCARTHY et al., 1992; WALSH et al., 2011). O aumento no número de linfócitos circulantes pode ser também observado nessa situação (MALM et al., 2004). A leucocitose secundária (tardia) resulta primariamente da liberação de neutrófilos em bastão da medula óssea (SUZUKI et al., 1999a; YAMADA et al., 2002), e sua ocorrência tem sido relacionada ao aumento na concentração plasmática de fatores humorais (i.e. cortisol, IL-6, IL-8, G-CSF e componente do complemento C5a) (McCARTHY et al., 1992; YAMADA et al., 2002; PAULSEN et al., 2005). O retorno da concentração de neutrófilos aos valores basais tem sido frequentemente observado dentro de 24 h após o exercício excêntrico (PIZZA et al., 1995; PIZZA; BAYLIES; MITCHELL, 2001; PAULSEN et al., 2005; PEAKE et al., 2006). No entanto, elevações adicionais foram verificadas entre 24, 48 e 96 h pós-esforço (PIZZA et al., 1996; MILIAS et al., 2005). A neutrofilia tardia após sessão de exercício excêntrico parece ser atenuada com a repetição do esforço em dias subsequentes (PIZZA et al., 1996), o que sugere que este tipo de resposta esteja em parte associada à magnitude do dano muscular (PAULSEN et al., 2005).

A elevação no potencial para adesão e respostas efetoras de neutrófilos e monócitos no sangue tem sido observada no período de 24-96 h pós-exercício excêntrico (CAMUS et al., 1992; PIZZA et al., 1996), sugerindo o recrutamento e a ativação dessas células para atuarem nos processos de inflamação e reparação de dano muscular. No entanto, em estudo de Saxton et al. (2003), a verificação de aumento na intensidade da fagocitose e do *burst* oxidativo por neutrófilos e monócitos circulantes, não acompanhados de mudanças em marcadores sanguíneos de dano muscular, levou à proposta de que as respostas funcionais de leucócitos após o exercício excêntrico sejam influenciadas pelo estresse sistêmico (i.e. demanda cardiovascular e metabólica) imposto pelo esforço, mas não por dano muscular.

Mudanças na expressão da integrina β_2 na superfície de neutrófilos e de monócitos circulantes foram observadas no pós-exercício excêntrico (MALM; LENKEI; SJÖDIN, 1999; PIZZA et al., 1996). A expressão de CD11b em neutrófilos aumentou 24-96 h após ações musculares excêntricas intensas. Em monócitos, essa alteração ocorreu somente 24 h pós-esforço, ao passo que a expressão de CD18 elevou-se 72 e 96 h depois do exercício (PIZZA et al., 1996). Em conjunto, esses resultados sugerem que, além da Mac-1, outras integrinas β_2 (i.e. CD11a, CD11c e CD11d/CD18) são recrutadas em fagócitos após o esforço excêntrico. Contudo, a ausência de alterações na expressão da integrina β_2 relatada em outros estudos (PEAKE et al., 2005a; SAXTON et al., 2003) indica que as respostas de neutrófilos e monócitos ao exercício podem ser influenciadas pelo protocolo do esforço empregado.

As associações entre as respostas sistêmicas de citocinas pró e anti-inflamatórias e o dano muscular excêntrico nem sempre se manifestam claramente e parecem, também, depender do tipo do esforço, além do nível de treinamento individual e do momento da coleta sanguínea (SMITH et al., 2000; HIROSE et al., 2004; PEAKE et al., 2005b; 2006). Além do músculo danificado, liberação de citocinas por outras fontes (i.e. fígado e linfonodos) e/ou a sua remoção do plasma (i.e. *clearance* renal e retenção em linfonodos) podem influenciar o *pool* circulante de citocinas durante a recuperação (CANNON et al., 1991; PYNE, 1994; SMITH et al., 2000).

Nas primeiras horas subsequentes ao exercício excêntrico, os padrões de resposta de IL-1 β , TNF- α e IL-6, por exemplo, têm variado entre os estudos, o que dificulta a interpretação dos achados (HIROSE et al., 2004; MICHAILIDIS et al., 2013). Contudo, no período de 24-96 h pós-esforço, os relatos de aumento nas concentrações circulante de IL-1 β , TNF- α e/ou IL-6 (SMITH et al., 2000; SILVA et al., 2010; MICHAILIDIS, et al., 2013) parecem estar em conformidade com o envolvimento destas citocinas coma degradação protéica e regeneração muscular (CANNON et al., 1991; FIELDING et al., 1993; LI et al., 2003). Por outro lado, a diminuição ou não alteração nas concentrações circulantes de IL-1 β e TNF- α , 24-96 h pós-exercício, concomitante ao aumento de IL-6 e IL-10 (SMITH et al., 2000; MICHAILIDIS, et al., 2013), podem ser em parte associados ao efeito anti-inflamatório mediado pela IL-6 (PEDERSEN; PEDERSEN, 2006).

O aumento na concentração circulante de proteínas de fase aguda, tal como a proteína C-reativa, após o exercício excêntrico (PAULSEN et

al., 2005; MICHAILEDIS, et al., 2013), sugere sua participação no controle da inflamação induzida pelo dano muscular (PAULSEN et al., 2005). A PCR exerce efeitos pró-inflamatórios e anti-inflamatórios (para revisão: BLACK; KUSHNER; SAMOLS, 2004), como, por exemplo, estimular a liberação de IL-1 β , bem como de IL-1ra por células mononucleares circulantes (TILG et al., 1993).

2.7 EVIDÊNCIAS DE BENEFÍCIOS DE FITOQUÍMICOS DIETÉTICOS ANTIOXIDANTES NO DANO MUSCULAR EXCÊNTRICO

O interesse no estudo de potenciais benefícios de compostos fitoquímicos dietéticos antioxidantes no dano muscular excêntrico tem crescido nas últimas décadas (para revisão: PANZA et al., 2015). Existem evidências de que a suplementação de alimentos ricos em fitoquímicos com propriedades antioxidantes favoreceu a recuperação muscular e/ou sintomas do DMIT associados ao exercício excêntrico. Por outro lado, o envolvimento de espécies reativas no dano muscular excêntrico necessita ser ainda melhor compreendido. Além disso, alguns estudos falharam em demonstrar que a suplementação de certos alimentos ricos em fitoquímicos antioxidantes melhorou a força muscular e/ou sintomas do DMIT após o dano muscular excêntrico (GOLDFARB et al., 2011), o que sugere que a eficácia dessa estratégia talvez dependa de complexas interações entre uma série de fatores, incluindo o tipo e a dose dos compostos fitoquímicos, a duração da intervenção, o metabolismo e as atividades biológicas dos fitoquímicos, a presença de outros compostos bioativos e a influência de agentes da matriz alimentar (PANZA et al., 2015). O Apêndice A apresenta um estudo de revisão sobre benefícios da suplementação com fitoquímicos dietéticos na recuperação do dano muscular induzido por exercício excêntrico.

2.8 A ERVA MATE

A erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill., Aquifoleaceae), é uma espécie de planta arbórea nativa da região subtropical da América do Sul, encontrada no Brasil, na Argentina, no Paraguai e no Uruguai. No Brasil, a erva mate está naturalmente presente nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Porém, somente nos três estados da Região Sul ocorre produção significativa (ROTTA; OLIVEIRA, 2010).

A infusão de erva mate verde é tradicionalmente consumida no Sul do Brasil, no Uruguai e na Argentina, sendo denominada chimarrão

ou *maté*, conforme a região. No Centro-Oeste do Brasil e no Paraguai, a erva mate é adicionada de água fria, recebendo o nome de tererê. Ambas as formas de preparo são feitas com folhas verdes, secas e moídas, e resultam em bebidas de sabor amargo peculiar, muito apreciado por seus consumidores. Há ainda o chá mate, cuja infusão possui sabor mais suave, que é popularmente consumido na Região Sudeste brasileira (BASTOS et al., 2007a; BRACESCO et al., 2011). Na fabricação do chá mate, a erva mate verde passa por um sistema de tostagem com fogo indireto, semelhante ao usado para a torrefação de café, resultando na erva mate tostada (MEDRADO, 2010).

A erva mate possui grande diversidade de fitoquímicos com importantes atividades biológicas, como, por exemplo, ações antioxidantes, anti-inflamatórias e hipocolesterolêmicas (para revisão: HECK; DE MEJIA, 2007; BRACESCO et al., 2011). Os principais componentes bioativos presentes no extrato aquoso de mate incluem diferentes compostos fenólicos, saponinas triterpênicas, alcalóides purínicos e vários minerais (para revisão: BASTOS et al., 2007a; BRACESCO et al., 2011). Os compostos fenólicos se destacam como os principais antioxidantes encontrados na erva mate. No extrato aquoso de erva mate são quantitativamente mais importantes os ácidos clorogênicos – tais como o ácido 5-*O*-cafeoilquínico e seus isômeros e os ácidos feruloilquínico e dicafeoilquínico – e, em menores proporções, os flavonóides rutina, quercetina e canferol (MAZZAFERA, 1997; FILIP et al., 2001; BASTOS et al., 2005; 2007b). O chá mate tem os mesmos constituintes das bebidas à base de mate verde, além de dois novos produtos, o ácido cafeoilshiquimico e o ácido dicafeoilshiquimico (BASTOS et al., 2007b).

As saponinas são glicosídeos de esteróides ou de triterpenos (VINCKEN et al., 2007) que apresentam notáveis efeitos hipocolesterolemiantes (LIU et al., 2008). A erva mate possui alto teor de saponinas triterpenóides, que contêm o ácido ursólico ou ácido oleanólico como esqueleto aglicona (GOSMANN et al. 1995), sendo ambos excelentes antioxidantes e anti-inflamatórios (OVESNÁ; KOZICS; SLAMENOVÁ, 2006; WU et al., 2011). Além disto, há evidências de que tanto o ácido ursólico como o ácido oleanólico são potentes inibidores de proteínas envolvidas com processos de sinalização celular, como, por exemplo, a PKA (proteína quinase A) e a PKC (proteína quinase C) (WANG; POLYA, 1996). Apesar da baixa biodisponibilidade das saponinas (para revisão: GAO et al., 2012), os ácidos ursólico e oleanólico, parecem ser efetivamente absorvidos e

depositados nos tecidos, onde exercem suas atividades biológicas (YIN et al., 2012).

Os alcalóides purínicos, cafeína, teobromina e teofilina estão naturalmente presentes nas folhas de erva mate, sendo os mais abundantes a cafeína, seguida da teobromina, (SALDAÑHA et al., 1999; COELHO; ATHAYDE; SCHENKEL, 2001). Os principais metabólitos da cafeína em seres humanos, a 1-metilxantina e o ácido 1-metilurico, possuem atividade antioxidante equivalente àquela do ácido ascórbico e do ácido úrico, respectivamente (LEE, 2000). No entanto, as metilxantinas, especialmente a cafeína, são estimulantes do sistema nervoso central (NEHLIG; DAVAL; DEBRY, 1992), e, portanto, elevado consumo de mate pode provocar insônia, ansiedade, taquicardia, além de outros efeitos indesejáveis em alguns indivíduos (KLEIN et al., 2011). A concentração de cafeína e de teobromina na erva mate parece depender da maturidade das folhas, sendo mais elevada nas folhas jovens (COELHO; ATHAYDE; SCHENKEL, 2001). Considerando-se as respectivas formas tradicionais de preparo, observou-se que o teor de cafeína no chá mate (~0,1 mg/mL) é inferior ao do chimarrão (~0,27 - 0,52 mg/mL) e ao do tererê (~0,20 mg/mL) (MAZZAFERA, 1997; BASTOS et al., 2005).

Com relação à variedade de minerais presentes na infusão de erva mate verde (70 g/L), destacam-se os conteúdos de cobre (0,28 mg/mL), magnésio (188 mg/mL) e manganês (34 mg/mL) (para revisão: BASTOS et al., 2007a). Considerando-se o consumo de um litro da bebida por dia, ter-se-ia ingestão de 31, 45 e 75,5% das respectivas recomendações diárias desses nutrientes (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997; 2001), os quais, dentre outras funções, colaboram com o sistema de defesa antioxidante (MACHLIN; BENDICH, 1987).

Os efeitos antioxidantes da erva mate foram verificados em experimentos *in vitro* e em animais (BIXBY et al., 2005; LEONARD et al., 2010). Estudos em seres humanos têm concordado com essas pesquisas em vários aspectos (SILVA et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2009). A incubação *in vitro* de monócitos com extrato de erva mate resultou na neutralização dos radicais $\cdot\text{OH}$ e $\text{O}_2\cdot^-$, gerados por meio das reações de Fenton e da xantina oxidase, respectivamente. Além disso, a erva mate inibiu a oxidação de lipídeos e de DNA (LEONARD et al., 2010). Macrófagos incubados com extrato de erva mate tiveram inibição na expressão da iNOS e menor produção de $\cdot\text{NO}$ (PUANGPRAPHANT; DE MEJIA, 2009).

Em seres humanos, o consumo agudo ou por 90 dias de chimarrão ou de chá mate melhorou a defesa antioxidante do plasma e de leucócitos. A ingestão de chá mate aumentou a expressão gênica e a atividade da enzima antioxidante paroxonase-2 em monócitos e macrófagos (FERNANDES et al., 2012). Em estudos anteriores, inibições na peroxidação lipídica no plasma e em lipoproteínas de baixa densidade foram verificadas 1 h após o consumo de chimarrão (SILVA et al., 2008). O consumo de chá mate aumentou a expressão gênica das GPx, da SOD e da catalase em leucócitos (MATSUMOTO et al., 2009). A capacidade antioxidante sérica e a concentração sanguínea de GSH permaneceram elevadas durante 90 dias de ingestão de chá mate (BOAVENTURA et al., 2012). Em pacientes diabéticos, diminuição significativa nas concentrações séricas de glicose, hemoglobina glicada e LDL-colesterol ocorreram após 40 e 60 dias de ingestão de chá mate (KLEIN et al., 2011).

Em estudo *in vitro*, o extrato aquoso de erva mate verde inibiu os efeitos citotóxicos do peroxinitrito (BIXBY et al., 2005). Em animais, o extrato aquoso de erva mate verde melhorou a reatividade vascular arterial (MUCCILLO BAICH et al., 1998; PAGANINI STEIN, 2005). Em conformidade com esses achados, Morais et al. (2009b) relataram diminuição na pressão arterial sistólica, em indivíduos normo ou dislipidêmicos que ingeriram chimarrão ou chá mate, durante 60 dias.

Existem evidências de que constituintes antioxidantes, tais como os que estão presentes na erva mate, podem se interar com membranas biológicas, o que tem sido proposto como importante mecanismo de proteção de membranas celulares contra a oxidação (OITEIZA et al., 2005; BONARSKA-KUJAWA; CYBORAN-MIKOLAJCZYK; KLESZCZYNSKA, 2015; KORCHOWIEC et al., 2015). A ação de agentes oxidantes na membrana pode aumentar o empacotamento de lipídios e, conseqüentemente, a rigidez da membrana. A rigidez na membrana prejudica a mobilidade de ácidos graxos e favorece a propagação da lipoperoxidação (VERSTRAETEN et al., 1997).

A distribuição e a interação de constituintes fitoquímicos em membranas biológicas parecem estar estreitamente associadas às suas propriedades físico-químicas (HAN et al., 1997; LORENT; QUETIN-LECLERCQ; MINGEOT-LECLERCQ, 2014; BONARSKA-KUJAWA; CYBORAN-MIKOLAJCZYK; KLESZCZYNSKA, 2015). Os ácidos clorogênicos, por exemplo, devido a sua natureza hidrofílica, se ligam à membrana na interface lipídio-água, o que se supõe explicar sua alta capacidade de proteger membranas celulares contra a ação de espécies reativas presente no meio aquoso (BONARSKA-KUJAWA;

CYBORAN-MIKOLAJCZYK; KLESZCZYNSKA, 2015). Além disto, os ácidos ursólico e oleanóico possuem igualmente caráter anfifílico (WANG; POLYA, 1996) e ambos os terpenóides mostraram exercer efeito estabilizador de membrana em modelo de bicamada lipídica (HAN et al., 1997).

A erva mate tem mostrado diferentes ações anti-inflamatórias, incluindo a modulação na atividade e na expressão gênica de fatores inflamatórios, tanto *in vitro* como em animais (LANZETTI et al., 2008; PIMENTEL et al., 2012). Contudo, os efeitos em seres humanos são ainda pouco claros (BRACESCO et al., 2011).

A atividade *in vitro* da elastase, oriunda de neutrófilos humanos, foi inibida por extrato alcoólico de erva mate (XU et al., 2009). Em macrófagos estimulados por lipossacarídeos, o tratamento com saponinas extraídas da erva mate inibiu a atividade de transcrição e a translocação nuclear do NF- κ B, bem como atenuou a produção de COX-2, PGE₂, IL-1 β e IL-6 (PUANGPRAPHANT; DE MEJIA, 2009). Em condições basais, a translocação do NF- κ B do citoplasma para o núcleo é impedida por seu inibidor I κ B (*inhibitor of NF- κ B*). Estímulos inflamatórios, incluindo EROs, induzem o recrutamento e a ativação de I κ B quinases (IKKs), que promovem a fosforilação do I κ B e a consequente liberação do NF- κ B (para revisão: CAAMAÑO; HUNTER, 2002). Em macrófagos de ratos obesos, tratados com chá mate liofilizado, houve diminuição na liberação de IL-1 β , IL-6, IL-10 e \bullet NO, bem como atenuação no aumento da expressão de RNAm de IL-1 β e de IL-6. Além disso, o chá mate atenuou a fosforilação do IKK- β e a ativação do NF- κ B, bem como a diminuição na expressão do IKK- α (BORGES et al., 2013).

Em ratos obesos, o chá mate liofilizado reduziu o aumento na expressão hepática, via NF- κ B, de iNOS, IL-6 e TNF- α , e atenuou a elevação das concentrações séricas de IL-6 e TNF- α (ARÇARI et al., 2011). Animais expostos à fumaça de cigarro e tratados, por cinco dias, com chá mate mostraram inibição na infiltração pulmonar de neutrófilos e de macrófagos e atenuação na lipoperoxidação, na concentração de TNF- α e na atividade da enzima metaloprotease de matriz 9 (MMP-9) tecidual (LANZETTI et al., 2008). Em outro estudo em animais, o tratamento com extrato aquoso de erva mate (liofilizado) reduziu significativamente a expressão da COX-2 e da iNOS, assim como, a infiltração de neutrófilos e macrófagos em processo inflamatório tecidual agudo ou crônico (SCHINELLA et al., 2014). Os efeitos anti-inflamatórios da erva mate foram também observados no sistema

nervoso central. A administração de extrato aquoso de erva mate, por dois meses, a animais obesos interferiu no aumento da expressão de NF- κ B p65 e na sinalização para a ativação do NF- κ B no hipotálamo. Além disso, a erva mate aumentou a concentração de IL-10 e a relação IL-10/TNF- α no fígado e no músculo esquelético (PIMENTEL et al., 2013). Resta estabelecer, entretanto, o efeito anti-inflamatório da erva mate em seres humanos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos do consumo de chá mate (200 mL, três vezes por dia), por 11 dias, na recuperação da força muscular e na concentração de marcadores do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação no sangue, plasma/soro e em neutrófilos em indivíduos saudáveis (19-30 anos) submetidos a uma sessão de exercício excêntrico com os membros superiores.

3.1.1 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do consumo do chá mate na recuperação da força muscular de membros superiores, imediatamente antes, imediatamente após e 24, 48 e 72 h depois do exercício excêntrico;
- Verificar o efeito do consumo do chá mate, antes e 24, 48 e 72 h depois do exercício excêntrico nas seguintes variáveis:
 - Concentrações séricas dos marcadores de dano tecidual creatina quinase e aldolase;
 - Concentração plasmática de compostos fenólicos totais;
 - Concentração dos marcadores do estresse oxidativo, sistema GSH/GSSG, nos eritrócitos, e peróxidos lipídicos e carbonilas protéicas, no plasma;
 - Concentrações sanguíneas de leucócitos, como marcadores da inflamação;
 - Concentrações séricas dos marcadores inflamatórios IL-1 β , IL-6, TNF- α e proteína C-reativa de alta sensibilidade;
 - Expressão da proteína CD11b em membrana de neutrófilos, como marcador da ativação de neutrófilos;
 - Expressão da subunidade p47^{phox} em neutrófilos, como marcador da atividade da enzima NADPH oxidase.

4 METODOLOGIA

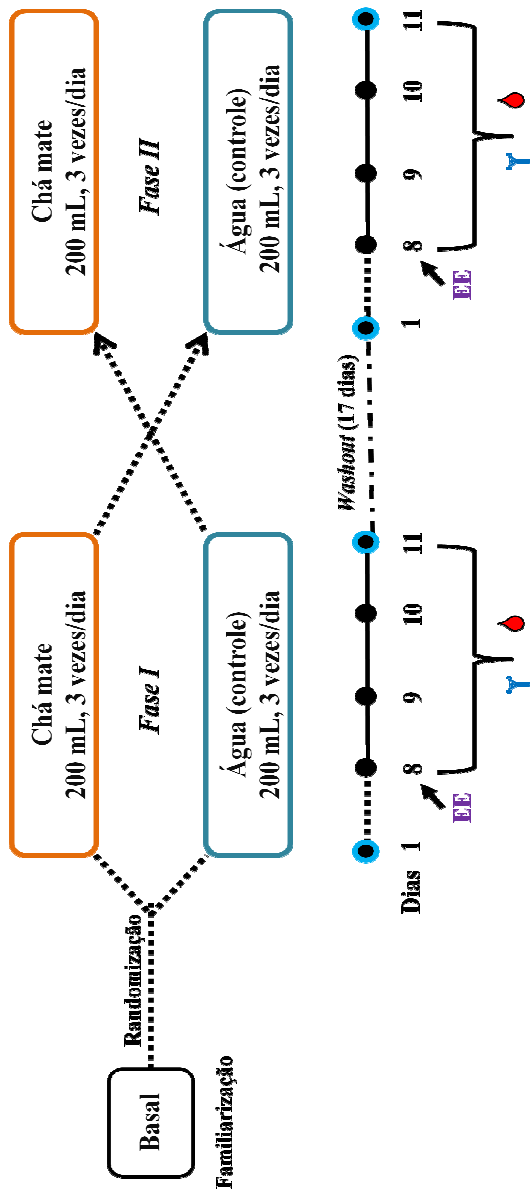
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

O estudo foi do tipo quantitativo, experimental, de intervenção e controlado, randomizado e cruzado. O protocolo experimental teve a duração de 39 dias e foi constituído de duas fases (fase I e fase II), com 11 dias de duração, cada uma, e um período de 17 dias (*washout*) entre elas (Figura 5). Na semana anterior (período BASAL) ao início do protocolo experimental, os voluntários foram submetidos a exercícios de familiarização e testes basais de força muscular máxima, realizados com um dos membros superiores (escolhido aleatoriamente). Posteriormente, na fase I do estudo (1^o ao 11^o dia), os participantes dos grupos chá mate e controle consumiram 200 mL de chá mate e água, respectivamente, três vezes por dia — pela manhã, à tarde e à noite —. Nos dias de exercício, os indivíduos ingeriram uma das três doses diárias dos respectivos tratamentos 1 h antes do início dos testes. Na manhã do 8^o dia, um protocolo de exercício excêntrico para infligir dano muscular foi executado com um dos membros superiores, escolhido aleatoriamente. Para avaliar o efeito dos tratamentos com chá mate ou controle, na função muscular, testes de força muscular voluntária máxima (isométrica, concêntrica e excêntrica) foram aplicados imediatamente antes (PRÉ), 2 minutos após (0 h) e 24, 48 e 72 h depois do dano muscular. Amostras sanguíneas foram coletadas da veia do braço não exercitado nos tempos PRÉ e 24, 48 e 72 h após o dano muscular, sempre antes do início dos testes de força. Na fase II do estudo (29^o ao 39^o dia), após o período *washout* (12^o ao 28^o dia), os participantes dos grupos chá mate e controle foram submetidos aos mesmos protocolos e procedimentos da fase I, com exceção do membro exercitado, que foi o contralateral, e dos tratamentos com as bebidas, que foram invertidos.

Nos dias de testes com exercício, os procedimentos experimentais eram iniciados, pela manhã, por volta de 7:00 h. Logo que chegavam ao laboratório, os voluntários eram acomodados em cadeiras, aí permanecendo por, aproximadamente, 15 min, a fim de permitir a regularização do fluxo sanguíneo de repouso, antes do início da coleta de sangue.

No período BASAL, os indivíduos foram submetidos à avaliação antropométrica. Nesta ocasião, foram coletados dados pessoais (Apêndice C) e fornecidas informações, verbais e por escrito, quanto aos procedimentos do preparo e consumo do chá mate, bem como orientações sobre o jejum nos dias de testes com exercício (Apêndice

Figura 5 - Representação esquemática do protocolo experimental.



EE – Exercício Excêntrico

T – Teste de força máxima: PRÉ e 0, 24, 48 e 72 h após EE

● – Coleta de sangue: PRÉ e 24, 48 e 72 h após EE

D). Nesse período, os voluntários, também, responderam a questionários para avaliação do consumo alimentar usual e do nível de atividade física.

Durante todo o estudo, os indivíduos mantiveram seus padrões dietéticos habituais, exceto pelas seguintes condições: (i) nos dias de exercício, o jejum foi qualitativamente padronizado – constituído de leite, açúcar, pão de trigo e mel – e consumido cerca de 2 h antes do esforço (Apêndice D); (ii) exclusão de bebidas à base de erva mate, pelo menos, duas semanas antes do início e durante todo o estudo, salvo a ingestão de chá mate relativa ao protocolo experimental; e (iii) abstenção de ingestão de bebida alcoólica e do consumo regular (mais de três vezes por semana) de bebidas contendo cafeína (ex. café, chás, refrigerantes, etc.), bem como daquelas com propriedades antioxidantes conhecidas (ex. chás e suco de frutas), durante, pelo menos, sete dias antes do início e ao longo do estudo. Na semana anterior ao início do protocolo experimental, os participantes responderam um questionário de frequência de consumo alimentar (QFA) (MACHADO et al., 2012) (Apêndice E). Em cada uma das fases do estudo (fase I e fase II), os indivíduos preencheram um registro alimentar de 3 dias (RD-3) (Apêndice F). Os voluntários mantiveram seus padrões de atividade física habituais durante todo o estudo, exceto nas 48 h anteriores ao dano muscular, durante as quais eles deveriam evitar atividades físicas intensas com os membros superiores.

4.2 DEFINIÇÃO DE TERMOS RELEVANTES

Ação muscular concêntrica (ou de encurtamento) - É o encurtamento do músculo ativado, resultando no movimento do esqueleto. O encurtamento muscular ocorre à medida que a força externa é vencida (RODGERS; CAVANAGH, 1984; KNUTTGEN; KRAEMER, 1987).

Ação muscular excêntrica (ou de alongamento) - Quando o músculo ativado é forçosamente alongado. Ocorre quando a força externa ultrapassa a força muscular desenvolvida (RODGERS; CAVANAGH, 1984; KNUTTGEN; KRAEMER, 1987).

Ação muscular isométrica - Quando as forças para o alongamento do músculo são exatamente iguais as forças geradas para o encurtamento do músculo, não havendo assim modificação no seu comprimento (ex. puxar uma barra fixa ou empurrar, sem sucesso, um objeto pesado) (RODGERS; CAVANAGH, 1984).

Ação muscular isocinética - Quando a velocidade de encurtamento ou de alongamento muscular é mantida constante, sob o controle de equipamentos específicos, motivo pelo qual ela é considerada artificial no contexto das atividades cotidianas (RODGERS; CAVANAGH, 1984). Equipamentos isocinéticos têm sido muito úteis em protocolos especialmente desenhados para a produção de dano muscular, assim como, para a avaliação da função muscular (PAULSEN et al., 2012).

Ações musculares de alongamento *in situ* - No presente estudo, o termo se refere a estudos em animais que empregaram modelos não fisiológicos de ações musculares excêntricas (i.e. estimulação elétrica e alongamento do músculo).

Aptidão física - Atributos que o indivíduo tem ou conquista que incluem, por exemplo: resistência cardiorrespiratória, resistência muscular, força muscular, composição corporal, flexibilidade, coordenação e tempo de reação (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSEN, 1985).

Atividade física - Qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos que resulte em gasto energético (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSEN, 1985).

Condutância (elétrica) - Propriedade que possui um condutor de permitir a passagem da corrente elétrica. O canal iônico pode ser entendido como um condutor elétrico. Nos canais de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (condutor), por exemplo, o íons Ca^{2+} atuam como carreadores de corrente (ROUSSEAU, E.; SMITH, J. S.; MEISSNER, 1987).

Dano muscular excêntrico - Inclui todas as alterações que sucedem o exercício excêntrico, além dos danos histologicamente evidentes (MORGAN; ALLEN, 1999).

Exercício excêntrico - Neste estudo, o termo se refere, genericamente, às ações musculares excêntricas, incluindo os protocolos de exercício constituídos predominantemente de ações musculares excêntricas (i.e. exercícios em dinamômetro isocinético, corrida em declive, pedalada reversa em cicloergômetro e movimentos descendentes no *step*), intencionalmente desenvolvidos para promover danos musculares, em seres humanos ou em animais.

Esportista - Neste estudo, refere-se tanto a indivíduos fisicamente ativos como atletas.

Exercício - Movimento corporal planejado, estruturado e repetitivo, produzido pelos músculos esqueléticos, que resulta em gasto energético (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSEN, 1985).

Fitoquímicos - Constituintes bioativos (ex. flavonóides) presentes em grande variedade de alimentos e bebidas de origem vegetal (ADA, 1995).

Força - Aquilo que modifica ou tende a modificar o estado de repouso ou de movimento de um objeto (KNUTTGEN; KRAEMER, 1987).

Gating (ion channel) - Termo em inglês que se refere à abertura e fechamento de canal de íon em resposta a um estímulo (= ativação do canal iônico) (MeSH/DeCS).

Nutrigenômica - Estudo científico do modo como genes específicos e componentes bioativos de alimentos (nutrientes e fitoquímicos) interagem (TRUJILLO; DAVIS; MILNER, 2006).

Tríade - Complexo de membranas presentes em fibras musculares estriadas, formado pela junção de um túbulo T e duas cisternas terminais do retículo sarcoplasmático (BARONE et al., 2015).

Torque - A efetividade de uma força produzir a rotação de um objeto em torno de um eixo. O produto entre a intensidade da força e a distância perpendicular a partir da linha de ação da força até o eixo de rotação (KNUTTGEN; KRAEMER, 1987).

Trabalho - Força expressa através de uma distância, mas sem limitação de tempo (KNUTTGEN; KRAEMER, 1987).

4.3 LOCAL DO ESTUDO E POPULAÇÃO ESTUDADA

O estudo foi conduzido na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizada na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, durante o período de 2012 a 2015. A população estudada foi composta por estudantes de Educação Física (graduação e pós-graduação), sendo

ela, então, composta por, aproximadamente, 236 alunos. Dessa população, selecionou-se uma amostra de 23 indivíduos.

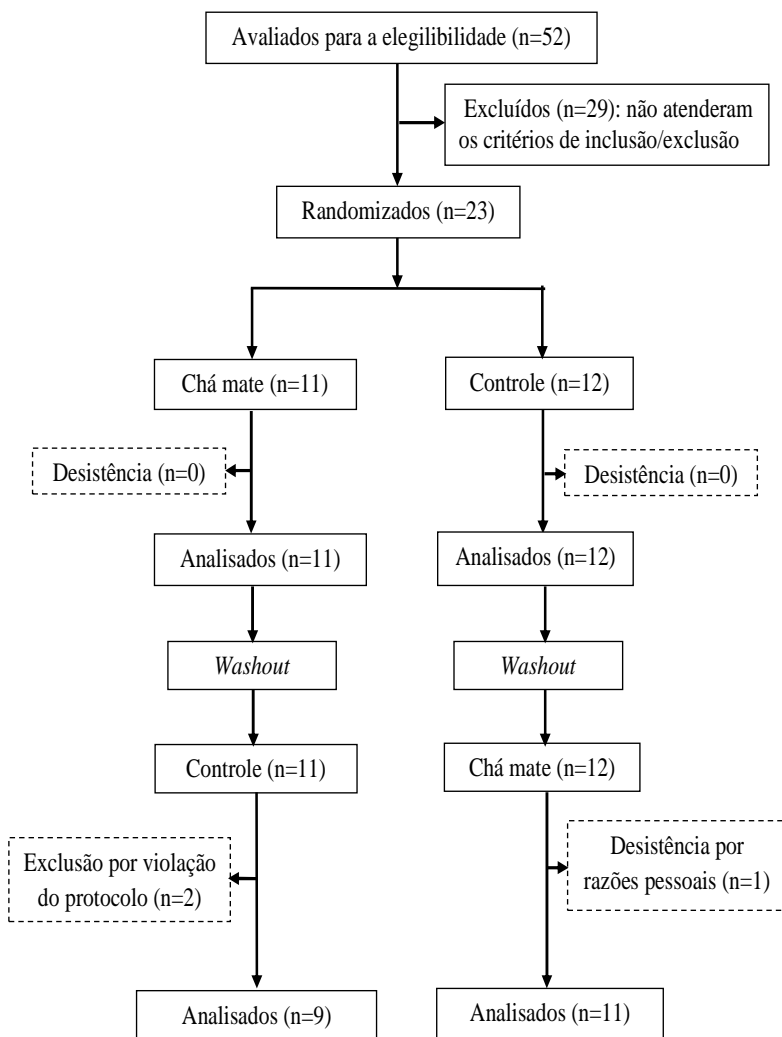
4.4 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA E PROCESSO DE AMOSTRAGEM

O número mínimo de indivíduos na amostra necessário para detectar diferença estatisticamente significativa ($\alpha < 0,05$) foi calculado assumindo-se um poder do teste de 0,80. Para o cálculo do tamanho da amostra, tomou-se como base o tamanho necessário para se detectar diferença significativa nos valores de GSH eritrocitária, assumindo-se o desvio padrão de 11 $\mu\text{mol/L}$, em indivíduos jovens e fisicamente ativos (PANZA et al., 2008). Assim, estimou-se uma amostra constituída de 10 indivíduos por grupo (ROSNER, 2011); porém, tendo-se em vista possíveis perdas e desistências, considerou-se um acréscimo de 20% (MIOT, 2011), totalizando, assim, 24 indivíduos.

A amostragem foi intencional, de modo a atender os seguintes critérios de inclusão: (i) sexo masculino; (ii) idade de 19 a 30 anos; (iii) fisicamente ativos, não atletas; e (iv) sem envolvimento regular em treinamento contrarresistência ou aeróbio nos três meses precedentes ao estudo (TROMBOLD et al., 2010). Os critérios de exclusão foram: (i) tabagistas; (ii) portadores de doenças ou processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos; história de lesão em membros superiores; e usuário de medicamentos, fitoterápicos, substâncias ergogênicas, tais como creatina, arginina e cafeína, ou suplementos de micronutrientes.

Cinquenta e dois indivíduos se voluntariaram para participar da pesquisa. Desses, 23 preencheram todos os critérios e foram incluídos na amostra. Os voluntários foram designados para iniciar o estudo com o consumo de chá mate ou de controle via procedimentos de randomização simples. Primeiramente, os participantes (P) foram identificados em ordem numérica, de 1 a 23. Em seguida, os indivíduos foram designados para um de dois grupos de tratamento (i.e. chá mate = 1; controle = 2), conforme sequência de números aleatórios, obtida por meio de um gerador de números aleatórios online (www.randomizer.org). Ao longo do estudo, um indivíduo desistiu da participação por razões pessoais, e dois foram excluídos da amostra por terem violado o protocolo: ingestão de medicamento anti-inflamatório e realização de exercício resistido, respectivamente. O fluxo de participantes durante o estudo está representado na Figura 6.

Figura 6 - Fluxo de participantes durante o estudo.



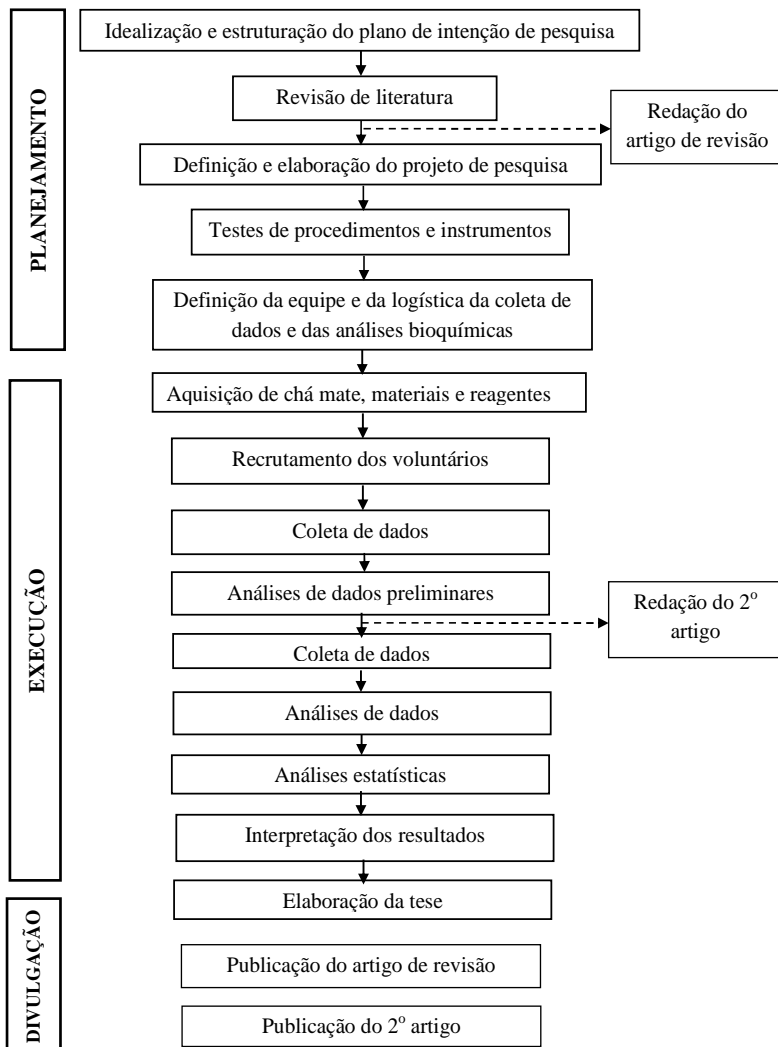
4.5 ETAPAS DA PESQUISA

As etapas da pesquisas são apresentadas na figura 7. A coleta de dados ocorreu de março a dezembro de 2014. Todos os procedimentos pré-experimentais e experimentais realizados com os participantes do estudo, incluindo avaliações antropométricas, testes de exercício e coleta de sangue, foram realizados no Laboratório de Esforço Físico do Departamento de Educação Física, UFSC.

4.6 PROCESSO DE COLETA DE DADOS

As análises bioquímicas foram feitas no Laboratório de Antioxidantes, Lipídeos, no Departamento de Análises Clínicas, UFSC, e no Laboratório de Doenças Crônicas, no Departamento de Ciências Fisiológicas, UFSC, respectivamente. As atribuições e os profissionais envolvidos na coleta de dados encontram-se no Quadro 1.

Figura 7 - Etapas da pesquisa.



Quadro 1 - Atribuições e profissionais envolvidos na coleta de dados.

Atribuições	Profissionais
Avaliação antropométrica	Vilma Panza ^a
Aplicação do QFA e do IPAQ	Vilma Panza ^a
Orientações sobre o registro alimentar	Vilma Panza ^a
Orientações sobre o preparo e consumo do chá mate	Vilma Panza ^a
Aplicação dos protocolos de exercício	Aline Cavalheiro Tamborindeguy ^b , Bruno Monteiro de Moura ^c e Raphael Luiz Sakugawa ^d
Aplicação dos protocolos experimentais de exercício	Aline Cavalheiro Tamborindeguy ^b , Bruno Monteiro de Moura ^c e Raphael Luiz Sakugawa ^d
Supervisão da aplicação do exercício	Prof. Dr. Fernando Diefenthaler ^e
Organização do material para a coleta sanguínea	Vilma Panza ^a
Transporte das amostras sanguíneas para os laboratórios de análises	Vilma Panza ^a
Análises bioquímicas	Marina Vieira de Oliveira ^f , Emiliana de Oliveira Puel ^f , Henver Simionato Brunetta ^g , Carolina de Quadros Camargo ^a , Vilma Panza ^a , Prof. Dr. Everson Nunes ^h , Prof Dr. Edson Luiz da Silva ⁱ
Supervisão das análises bioquímicas	Prof. Dr. Everson Nunes ^h , Prof Dr. Edson Luiz da Silva ⁱ

^aDoutoranda em Nutrição; ^bDoutoranda em Educação Física, UFSC; ^cMestre em Educação Física, UFSC; ^dMestrando em Educação Física, UFSC; ^eLaboratório de Biomecânica, UFSC; ^fAluno do curso de Farmácia, UFSC; ^gMestrando em Ciências Fisiológicas, UFSC; ^aDoutoranda em Nutrição, UFSC; ^hLaboratório de Investigação de Doenças Crônicas, UFSC; ⁱLaboratório de Antioxidantes, Lipídeos e Arteriosclerose, UFSC (Orientador). QFA, questionário de frequência de consumo alimentar; IPAQ, (Questionário Internacional de Atividade Física).

4.7 MODELO DE ANÁLISE

O tratamento com chá mate representou a variável independente do estudo. As variáveis dependentes, examinadas como indicadores do dano muscular, da inflamação e do estresse oxidativo, estão relacionadas no Quadro 2. As variáveis de controle foram: sexo, idade, desjejum padronizado, consumo de bebidas com propriedades antioxidantes, nível de atividade física e prática de exercício resistido. As variáveis intervenientes foram: dieta, lateralidade do membro testado, prática de atividade física e nível de aptidão física.

A fim de reduzir o efeito das variáveis intervenientes nos resultados do estudo, foram feitos procedimentos de randomização para a alocação dos participantes nos grupos de tratamento, assim como, na designação do membro superior que a ser inicialmente testado, na fase I do estudo.

Quadro 2 - Variáveis dependentes marcadoras do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação (continua).

	Variável dependente	Músculo/amostra	Unidade de medida
Marcadores de dano muscular	Força muscular máxima	Flexores do cotovelo	N.m
	Atividade da enzima creatina quinase	Soro	U/L
	Atividade da enzima aldolase	Soro	U/L
	Compostos fenólicos totais	Plasma	mg equivalentes de ácido clorogênico/mL
Marcadores do estresse oxidativo	GSH	Sangue	μmol/gHb
	GSSG	Sangue	μM/gHb
	Hidroperóxidos lipídicos	Plasma	μM
	Carbonilas protéicas	Plasma	nmol/mg

Quadro 2 - Variáveis dependentes marcadoras do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação (conclusão).

	Variável dependente	Músculo/ amostra	Unidade de medida
Marcadores da inflamação	Número de leucócitos totais	Sangue	$\times 10^3/\mu\text{L}$
	Número de granulócitos	Sangue	$\times 10^3/\mu\text{L}$
	Número de monócitos	Sangue	$\times 10^3/\mu\text{L}$
	Número de linfócitos	Sangue	$\times 10^3/\mu\text{L}$
	Concentração de IL-1 β	Soro	pg/mL
	Concentração de IL-6	Soro	pg/mL
	Concentração de TNF- α	Soro	pg/mL
	Concentração da PCR-as	Soro	mg/L
	Expressão da subunidade p47 ^{phox}	Neutrófilos	IMF (u.a.)

GSH, glutationa reduzida; GSSG, glutationa oxidada; Hb, hemoglobina; IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral; PCR-as, proteína C-reativa de alta sensibilidade; IMF (u.a.), intensidade média de fluorescência (unidades arbitrárias).

4.8 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS

4.8.1 Caracterização do chá mate

4.8.1.1 Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais do chá mate solúvel liofilizado foi medido por meio do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999). Trezentos microlitros do chá mate (5mg/mL) foram adicionados a 1 mL de etanol (95%), 5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (50%). Após 5 min, foram adicionados 1 mL de bicarbonato de sódio 5%. A mistura permaneceu à temperatura ambiente e na ausência de luz por 1 h. A absorbância do produto colorido foi medida em 765 nm (Shimadzu, Kioto, Japão) e o ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquinico) foi usado como padrão. A média do coeficiente de variação (CV) interensaio para as preparações em triplicata foi 7,3%. Os resultados foram expressos em mg/g.

4.8.1.2 Determinação de ácidos fenólicos e metilxantinas

Os ácidos fenólicos no chá mate foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC; Shimadzu LC-10; Kioto, Japão), conforme descrito por Strassmann et al.. (2008). O mate solúvel foi preparado e filtrado por meio de membrana microporosa (0,45 μm) e alíquotas foram injetadas em coluna de fase reversa C18 (Shim-pack, 4,6 mm \times 250 mm, 5 μm), com coluna de guarda Shim-pack C18 (4,0 mm \times 10 mm, 5 μm). A fase móvel isocrática foi constituída de água, ácido acético e n-butanol (97,0:0,28:2,72, v/v/v), com fluxo de 0,8 mL/min. Para os ácidos fenólicos, a análise foi monitorada em 325 nm. A concentração de ácidos fenólicos foi quantificada por meio de curvas de calibração de cinco pontos. Como padrões foram usados os ácidos 3-cafeoilquínico, 4-cafeoilquínico, 5-cafeoilquínico, 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico, 4,5-dicafeoilquínico, gálico e caféico. Para as metilxantinas, a análise foi realizada em 280 nm e a concentração foi calculada por meio de curvas padrão de cafeína, teobromina e teofilina. A concentração final foi determinada utilizando-se a média dos resultados de três injeções consecutivas. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g/mL}$ e em mg/g.

4.8.1.3 Determinação de saponinas totais

O conteúdo de saponinas totais no chá mate foi medido por meio de método espectrofotométrico após a hidrólise ácida das saponinas e a extração de sapogeninas, conforme descrito por Gnoatto et al.. (2005), e a reação com vanilina e ácido perclórico, de acordo com Fan e He (2006). O ácido ursólico, o principal núcleo triterpênico das saponinas presentes na *I. paraguayensis* (GNOATTO et al.. 2005), foi usado como padrão, e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido ursólico por mililitro. O CV interensaio do conteúdo de saponinas total de três preparações de chá mate foi 8,1%.

4.8.1.4 Determinação da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante do chá mate foi determinada por meio do potencial antioxidante redutor férrico – FRAP (do inglês, *ferric reducing ability of plasma*). Nesse ensaio, os antioxidantes presentes no chá mate são avaliados como redutores do Fe^{+3} a Fe^{+2} , o qual é quelado pela 2,4,6-Tri(2-Piridil)-s-Triazina (TPTZ; Fluka, Milwaukee, EUA), para formar o complexo Fe^{+2} -TPTZ, com absorção máxima em 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996). Dez microlitros de chá mate foram

adicionados a 1 mL de reagente contendo FeCl_3 1,7 mM e TPTZ 0,8 mM, preparado em acetato de sódio 300 mM, pH 3,6. As amostras foram incubadas (15 min a 37° C) e a absorbância foi lida em 593 nm (Spectrum 2000, EUA). Os resultados foram calculados usando-se curva-padrão preparada com diferentes concentrações de Trolox (Sigma, St. Louis-EUA), um análogo hidrossolúvel da vitamina E, e foram expressos em $\mu\text{mol/L}$ equivalentes Trolox.

4.8.2 Preparo e consumo do chá mate

Cada participante recebeu uma embalagem contendo 50 g de chá mate solúvel liofilizado comercial (Leão Alimentos e Bebidas, Curitiba-PR), e as instruções, quanto ao preparo e consumo da bebida, foram fornecidas verbalmente e por escrito (Apêndice D). O chá mate foi preparado conforme as recomendações do fabricante, diluindo-se uma colher de chá (1 g) de mate solúvel em 200 mL de água (proporção final: 5 mg/mL). Não foi permitida a adição de açúcar, adoçantes artificiais ou qualquer outra substância. Após o preparo, o chá mate foi imediatamente consumido. A escolha da ingestão de 200 mL de chá mate, três vezes por dia, teve como base os relatos de que o consumo de três doses diárias de 330 mL de chá mate (20 mg de erva por mL de água, produzindo 8,5 mg/mL de extrato sólido solúvel) exerceu efeitos modulatórios na expressão gênica em monócitos/macrófagos e na concentração de marcadores plasmáticos do estresse oxidativo (SILVA et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2009; KLEIN et al., 2011; FERNANDES et al., 2012). O período de 11 dias de intervenção com chá mate foi escolhido a partir das evidências de que o consumo de chá mate por sete dias foi suficiente para a observação dos efeitos modulatórios citados acima (MATSUMOTO et al., 2009; FERNANDES et al., 2012).

4.8.3 Avaliação antropométrica e do nível de atividade física

A avaliação antropométrica incluiu mensurações de massa corporal, estatura e dobras cutâneas. Os indivíduos foram avaliados pela manhã, descalços, com roupas leves e antes de qualquer atividade física. A massa corporal foi registrada em quilogramas, empregando-se balança eletrônica (Toledo[®], São Bernardo do Campo-SP), com resolução de 100 g. A estatura foi medida com estadiômetro de parede (Seca[®], Hamburgo, Alemanha), com resolução de 1 mm. As dobras cutâneas, tricúspita, subescapular, suprailíaca e panturrilha medial foram mensuradas por meio de um adipômetro científico (Cescorf

Equipamentos[®], Porto Alegre-RS), com escala de 0,1 mm. A densidade corporal foi estimada, utilizando-se a seguinte equação desenvolvida por Petroski (1995): $1,10726863 - 0,00081201 (\Sigma 4SF) + 0,00000212 (\Sigma 4SF)^2 - 0,0004176$, onde $\Sigma 4SF$ representa o somatório das dobras cutâneas tricípital, subescapular, supraílica e panturrilha medial. O valor da densidade corporal foi usado na estimativa do percentual de gordura corporal, segundo a equação de Siri (1961): % Gordura corporal = $(495/\text{densidade corporal}) - 450$ (PETROSKI, 1995).

Para a avaliação do nível de atividade física, os indivíduos responderam ao Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ - versão curta) (Anexo A), validado em população brasileira (MATSUDO et al., 2001). Esse instrumento avalia o tempo gasto em atividades (trabalho, lazer ou esporte) na última semana e inclui os seguintes níveis de classificação: muito ativo, ativo, irregularmente ativo, irregularmente ativo A, irregularmente ativo B e sedentário.

4.8.4 Avaliação do consumo alimentar

Para o conhecimento do padrão da ingestão dietética habitual dos participantes, na semana anterior (THOMPSON; BYERS, 1994) à realização do dano muscular, aplicou-se um questionário de frequência de consumo alimentar (QFA). O QFA foi de caráter qualitativo e incluiu 19 grupos de alimentos (MACHADO et al., 2012), com 5 opções de frequência de consumo (Apêndice E). A proporção de indivíduos em cada opção de frequência de consumo, para cada grupo de alimentos, foi avaliada. A reprodutibilidade e a validade do QFA empregado foram testadas em adultos residentes na Região Metropolitana de Porto Alegre (MACHADO et al., 2012). O estudo sugeriu boa reprodutibilidade para todos os grupos alimentares e validade satisfatória para a maioria dos grupos analisados. A escolha de um QFA baseado em grupos de alimentos se deveu, principalmente, à sua vantagem de ter uma reduzida lista de itens alimentares, oferecendo, assim, praticidade do indivíduo respondê-lo.

Para a avaliação da ingestão energética e de nutrientes atual, durante os respectivos períodos de tratamentos com chá mate ou controle, os indivíduos preencheram um RD-3d durante cada fase do estudo (fase I e fase II). Para cada RD-3d, os dias escolhidos incluíram dois dias de semana e um dia de final de semana não consecutivos (THOMPSON; BYERS, 1994). Os indivíduos foram instruídos (verbalmente e por escrito) sobre os procedimentos do RD-3d (Apêndice F), quanto ao registro do tamanho da porção, medidas caseiras, técnicas de preparo, combinação de alimentos e descrição do conteúdo

nutricional (*light*, magro, enriquecido com vitaminas/minerais etc.). Em cada período de tratamento, foram determinadas as ingestões diárias de energia, carboidrato, proteína, lipídeo e dos micronutrientes antioxidantes: vitamina E, vitamina C, vitamina A, selênio, zinco, cobre e manganês. A ingestão diária de cafeína foi também analisada. O consumo nutricional diário foi considerado como a média dos três dias de registro alimentar. Para a análise do consumo nutricional utilizou-se o programa Avanutri - versão Revolution 4.0.

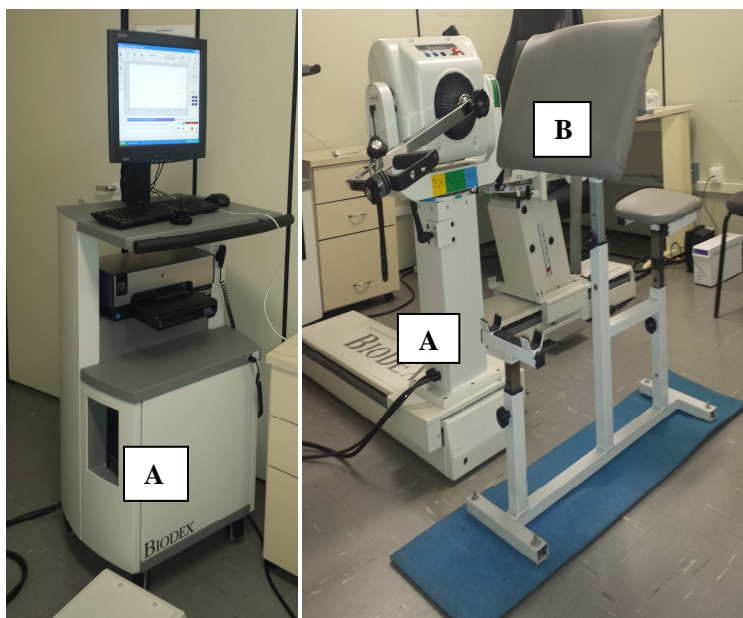
A análise do consumo nutricional individual (IOM, 2000) foi feita segundo as respectivas preconizações das *Dietary Reference Intakes* (DRIs): EER (*Estimated Energy Requirement*), para energia; AMDR (*Acceptable Macronutrient Distribution Range*), para os macronutrientes; e RDAs (*Recommended Dietary Allowance*)/AI (*Adequate intake*), para os micronutrientes (IOM, 2005; 2011). Para a análise quantitativa da adequação do consumo energético, foi comparada a média do consumo de energia (dos três dias) com a estimativa do gasto energético (EER) + 2 desvios padrões. Para a análise da adequação da ingestão de carboidrato, de proteína e de lipídeo, foi comparado diretamente o percentual da média do consumo do macronutriente com o respectivo percentual da AMDR. Quanto aos micronutrientes, foram feitas análises qualitativas da ingestão de acordo com as respectivas RDAs (IOM, 2011). Os consumos foram interpretados como: adequado, inadequado ou excessivo, para energia; adequado, insuficiente ou excessivo, para macronutrientes; e, adequado ou inadequado, para micronutrientes (SOARES; MAIA; 2013).

4.8.5 Protocolos do exercício excêntrico e dos testes de força máxima

Os protocolos de exercício empregados no estudo incluíram uma sessão de exercício excêntrico e testes de força máxima, isométrica, concêntrica e excêntrica. Todos os exercícios foram realizados em dinamômetro isocinético (*Biodex System 4 Pro*[®] - Biodex Medical System, Inc., Shirley, Nova Iorque-NY, EUA), adaptado a um banco Scott (Troia, Curitiba-PR) (Figura 8). O dinamômetro isocinético permite a execução de movimentos de flexão-extensão, onde o braço de alavanca se move em uma velocidade angular constante (i.e. isocinética), previamente determinada. No equipamento, o desempenho muscular avaliado é quantificado e registrado por meio de *software* e as informações são visualizadas em tela de computador. Os valores de força foram registrados em Newton metros (N.m). Todos os protocolos de exercício aplicados no estudo foram desenhados pelos pesquisadores Dr. Fernando Diefenthaler e Ms. Aline Tamborindeguy. Protocolos de

exercício excêntrico para induzir dano muscular, semelhantes ao empregado neste estudo, foram usados em outras pesquisas, com algumas variações (TROMBOLD et al., 2010; 2011; GOLDFARB et al., 2011).

Figura 8 - Dinamômetro isocinético (A) e banco Scott (B).



No período BASAL, os indivíduos realizaram uma sessão de exercícios de familiarização com o dinamômetro isocinético, que incluiu testes basais de força máxima, isométrica, concêntrica e excêntrica, iguais aos executados durante os períodos de tratamentos com chá mate e controle, conforme descrito adiante. Os exercícios de familiarização serviram para a adaptação do indivíduo à execução correta dos movimentos. Além disto, nessa ocasião, o comprimento e o posicionamento do braço de alavanca do dinamômetro foram ajustados para cada indivíduo (Figura 9), e os dados foram anotados para serem posteriormente utilizados como referência no protocolo experimental.

Figura 9 - Ilustração da realização de ajustes individuais no dinamômetro isocinético.



O protocolo do exercício excêntrico consistiu em 60 ações musculares excêntricas máximas unilaterais com os músculos flexores do cotovelo, dividida em três séries de 20 repetições (Figura 10). Cada repetição foi executada na velocidade de $45^{\circ}/s$, iniciando com a articulação do cotovelo em 50° da flexão total e terminando em 170° , totalizando 120° de amplitude. O eixo de rotação do dinamômetro foi alinhado com o epicôndilo do úmero. A duração de cada repetição foi de 3 s e o intervalo de descanso entre as séries foi de 2 min. Durante todo o exercício, o indivíduo foi verbalmente estimulado a realizar toda extensão de deslocamento. Após completar o movimento excêntrico, o voluntário foi instruído a flexionar o cotovelo à medida que o braço de alavanca do dinamômetro retornava passivamente à posição inicial. O trabalho realizado durante o protocolo excêntrico foi registrado e foi expresso em N.m. As designações do membro superior a ser testado no

período BASAL e na fase I do estudo foram feitas com auxílio de um gerador de números aleatórios *online* (www.randomizer.org), de modo semelhante ao descrito anteriormente para a alocação randomizada dos tratamentos com chá mate e controle. O modelo de exercício unilateral com o membro escolhido randomicamente poderá atenuar os fatores de confusão, tais como nível de condicionamento, genética, fatores relacionados ao estilo de vida e, principalmente, o efeito residual protetor do dano muscular excêntrico ("*repeated bout effect*") (McLEAY et al., 2012; NEWTON et al., 2013).

Figura 10 - Ilustração da execução do exercício excêntrico no dinamômetro isocinético.



Os testes de força muscular voluntária máxima foram aplicados antes e 2 minutos após (0 h) e 24, 48 e 72 h depois do dano muscular (Figura 11). Antes do início dos testes, os participantes realizaram no equipamento isocinético uma série de aquecimento constituída de flexão e extensão da articulação do cotovelo (10 repetições) a 120 °/s.

O teste de força isométrica consistiu em três a quatro ações musculares isométricas voluntárias máximas, executadas a 90° de flexão do cotovelo, com duração de 5 s cada série. O intervalo de recuperação entre cada ação muscular foi de 2 min. O valor de força isométrica pico (i.e., pico de torque isométrico - PT_{iso}) escolhido foi o maior valor dos três ou quatro resultados alcançados. Anteriormente ao teste máximo (2 min antes), foram executadas três ações musculares isométricas voluntárias submáximas, em ângulo de 90° de flexão do cotovelo, separadas por 2 min de intervalo. A duração de cada série foi de 5 s.

Quanto às forças dinâmicas, o teste inclui uma série de três ações musculares concêntricas e excêntricas máximas, executadas na velocidade de $45^\circ/s$. Considerou-se como picos de torque concêntrico (PT_{conc}) e excêntrico (PT_{exc}) o maior dos três r obtidos de força concêntrica e excêntrica, respectivamente. Antes do teste máximo (2 min antes), foi realizada uma série de três ações musculares concêntricas e excêntricas submáximas, na velocidade de $45^\circ/s$.

Figura 11 - Ilustração da execução do teste de força máxima no dinamômetro isocinético



4.8.6 Obtenção de amostras sanguíneas

O sangue foi coletado por técnico laboratorial habilitado, entre 7:00 e 8:00 h. As amostras foram obtidas do membro contralateral que estava sendo testado. A veia antecubital mediana foi puncionada pela inserção de agulha hipodérmica (25 x 7 mm), e o sangue (28 mL) foi coletado usando-se sistema a vácuo (BD Vacutainer®, Curitiba-PR) em quatro tubos contendo heparina sódica, um tubo com ácido tetraacético etileno (EDTA) e dois tubos sem anticoagulante ou aditivos. O sangue foi centrifugado imediatamente (1000 x g, 15 min, 4 °C) para a obtenção do plasma e do soro, que, em seguida, foram congelados a -80 °C para posteriores análises. Para as análises do status da glutatona, uma alíquota de sangue total-EDTA (1 mL) foi transferida para um tubo Eppendorf contendo 100 µL de N-etilmaleimida 310 mM (NEM310), misturadas em vortéx e congelada a -80 °C para posteriores análises.

4.8.7 Análises bioquímicas

4.8.7.1 Creatina quinase no soro

A atividade da enzima creatina quinase foi quantificada no soro utilizando-se o sistema de reação Labtest® (Lagoa Santa-MG), por meio de método cinético, conforme as instruções do fabricante. A creatina quinase catalisa a reação reversível de fosforilação da creatina usando ATP como doador de fosfato. O princípio do método baseia-se na medida dos produtos finais, creatina e ATP, formados na reação catalisada pela creatina quinase entre a creatina-fosfato e o ADP. O ATP produzido na primeira reação é, então, empregado em um ensaio enzimático acoplado de glicose, utilizando-se as enzimas glicose hexoquinase e glicose-6-fosfato desidrogenase. A produção de NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) na reação indicadora foi monitorada em 340 nm (Shimadzu, Tóquio, Japão), a qual está relacionada à atividade da creatina quinase na amostra. A atividade da enzima foi calculada usando-se o coeficiente de absorvidade (ϵ) do NADPH em 340 nm de $6,22 \times 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Os resultados foram expressos em U/L.

4.8.7.2 Aldolase no soro

A atividade sérica da enzima aldolase foi determinada no soro por meio de método cinético, usando o sistema de reação Randox® (Randox Laboratories, Reino Unido), conforme as instruções do fabricante. A aldolase converte a frutose-1,6-difosfato em gliceraldeído-3-fosfato e di-

hidroxiacetona fosfato. O princípio do método baseia-se na conversão de di-hidroxiacetona a glicerol-1-fosfato, pela adição de triosefosfato isomerase, glicerolfosfato dehidrogenase e NADH (nicotinamide adenine dinucleotide). A diminuição na absorvância em 340 nm (Shimadzu, Tóquio, Japão), em decorrência da conversão de NADH a NAD, está associada à atividade da aldolase na amostra. A velocidade de reação da enzima foi calculada utilizando-se o ϵ do NADH em 340 nm de $6,22 \times 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Os resultados foram expressos em U/L.

4.8.7.3 Compostos fenólicos totais no plasma

A concentração de compostos fenólicos totais (FEN) no plasma foi medida por meio do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Serafini, Maiani e Ferro-Luzzi (1998). Sucintamente, 500 μL de amostras de plasma em duplicata foram acidificadas e, após a extração dos fenólicos complexados com hidróxido de sódio alcoólico, as proteínas foram precipitadas, utilizando-se ácido metafosfórico 0,75 M e extraídas com uma mistura de acetona/água (1/1). Em seguida, alíquotas (50 μL) de amostras foram adicionadas a 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (50%). Após 5 min, 1 mL de bicarbonato de sódio a 5% foi adicionado. A mistura foi deixada à temperatura ambiente, no escuro, por 1 h. A absorvância do produto colorido foi medida em 765 nm e o ácido 5-cafeoilquínico foi usado como padrão. Os resultados foram expressos em miligrama de equivalente de ácido clorogênico (EAC) por litro. A média do CV interensaio para a preparação em duplicata foi 6,8%.

4.8.7.4 Glutaciona reduzida e glutaciona oxidada no sangue

A concentração de GSH foi determinada no sangue total por HPLC, conforme os procedimentos descritos por Giustarini et al. (2013). Alíquotas de sangue total-EDTA tratadas com NEM310 (ver o tópico "Obtenção de amostras sanguíneas") foram desproteinizadas pela adição de ácido tricloroacético (TCA) a 15% e, em seguida, centrifugados ($14.000 \times g$ à temperatura ambiente, por 2 min). Para a GSH, o sobrenadante foi analisado por HPLC, utilizando-se coluna C18 (Tosoh - TSK-gel ODS-80Ts; 4.6 mm x 150 mm x 5 μm). A fase móvel foi constituída de ácido acético a 0,25% e acetonitrila (94:6, v/v), com taxa de fluxo de 1,25 mL/min. Os sinais foram registrados em 265 nm, com 400 nm como referência. Para os cálculos da concentração de GSH na amostra, foi utilizada a curva padrão de GSH (Sigma-Aldrich, St

Louis-MO, EUA) com diferentes concentrações (0,125; 0,25; 0,5; 1,0 e 20 mM) e análise de regressão linear.

A concentração de GSSG foi determinada no sangue total por método colorimétrico em espectrofotômetro (Shimadzu, Tóquio, Japão), de acordo com a metodologia descrita por Giustarini et al. (2013). Alíquotas de sangue total-EDTA tratadas com NEM310 foram desproteinizadas e centrifugadas, conforme descrito acima. O sobrenadante foi retirado e foi misturado com três volumes de diclorometano (DCM). Os tubos foram misturados vigorosamente em agitador tipo vortex por 5 min e centrifugados a 14.000 x g por 30 s. Em seguida, em tubo de ensaio denominado Branco, foram adicionados 20 µL de sobrenadante, 925 µL de PBS 200 mM, 5 µL de ácido ditionitrobenzóico (DTNB), 20 µL de TCA 7,5% com EDTA e 20 µL de NADPH e a absorbância foi monitorada durante um minuto em 412 nm (Spectrophotometer UV-1800 – Shimadzu, Kioto, Japão). A reação foi iniciada pela adição de 20 µL da enzima glutationa redutase (GR) 20 IU/mL, e a cinética da reação foi monitorada em 412 nm, durante 1 min, à temperatura ambiente. Ao final desse tempo, foi adicionado GSSG 10 µM e a absorbância da reação foi lida durante mais 1 min. Para os cálculos, utilizou-se a média de Δ Abs/min de duplicatas. A concentração de GSSG no sangue foi calculada conforme a equação: $GSSGb = S \times [GSSGc] / St \times 49,5 \times 2$, onde $S = \Delta$ amostra – Δ branco; $St = (\Delta$ amostra + Δ GSSG) – Δ amostra; 49,5 = fator de diluição da amostra na cubeta e; 2 = diluição devido à acidificação.

Os resultados de GSH e GSSG foram expressos em µmol por grama de hemoglobina. A hemoglobina foi quantificada por ensaio colorimétrico de ponto final. Em tubo de ensaio, 10 µL de sangue total (retirado da mesma alíquota utilizada para a análise de GSH e GSSG) foram misturados com reagente de Drabkin (Labtest®, Lagoa Santa-MG). Após 5 min, a absorbância foi lida em 540 nm, à temperatura ambiente. A concentração foi expressa em g/dL utilizando o fator de calibração obtido com o padrão de hemoglobina (Hb).

4.8.7.5 Hidroperóxidos lipídicos no plasma

Os hidroperóxidos lipídicos presentes no plasma foram quantificados pelo método da oxidação do ferro com alaranjado de xilenol (FOX2), conforme descrito por Nourooz-Zadeh et al. (1994). O princípio do método baseia-se na rápida oxidação do Fe^{+2} a Fe^{+3} em meio ácido, mediada pelos peróxidos lipídicos. O Fe^{+3} na presença de alaranjado de xilenol forma um complexo (Fe^{+3} -alaranjado de xilenol)

que pode ser quantificado em 560 nm. O reagente FOX2, contendo 250 mM de H₂SO₄, 4,4 mM de hidroxitolueno butilado (BHT), 1 mM de alaranjado de xilenol e 2,5 mM de sulfato ferroso de amônia em metanol, foi adicionado em alíquotas de plasma, em duplicata (Teste). Dez microlitros de trifetilfosfina (TEP) 1 mM em metanol foram adicionados a dois microtubos extras para a redução dos hidroperóxidos lipídicos, anteriormente à adição do reagente FOX2, resultando assim no branco da amostra. Subsequentemente, as misturas foram mantidas em temperatura ambiente, por 30 min e, em seguida, centrifugadas (10.000 x g, 5 min). A absorbância do sobrenadante foi lida em 560 nm (Shimadzu, Tóquio, Japão). Para a quantificação dos hidroperóxidos lipídicos, foi utilizada a diferença entre as concentrações do teste (hidroperóxidos totais) e do branco (hidroperóxidos não-lipídicos) e uma curva-padrão de peróxido de hidrogênio. Os resultados estão expressos em µmol/L de equivalentes de peróxido de hidrogênio. O coeficiente de variação (CV) entre ensaios, calculado por meio da medida do peróxido de hidrogênio em diferentes dias, foi 10,2%. O percentual CV médio para a variação em duplicata foi 6,7%.

4.8.7.6 Carbonilas protéicas no plasma

A concentração plasmática de carbonilas protéicas foi determinada por meio de método colorimétrico, conforme descrito por Levine et al. (1990). O método baseia-se na reação do grupo carbonil, presente na proteína oxidada, com 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH), formando um complexo (proteína-hidrazona) que pode ser quantificado em 360 nm. Em um tubo Eppendorf contendo uma alíquota de 100 µL de plasma, foram adicionados 600 µL de DNPH diluído em HCl 2 M ou 600 µL de HCl 2M (branco da amostra). A mistura foi incubada por 1 h, no escuro, com agitação a cada 10 min. Posteriormente, foram adicionados 600 µL de TCA 20%, e a mistura foi centrifugada (11000 x g, por 5 min, a 4 °C). O sobrenadante foi descartado, e o *pellet* foi lavado, por três vezes, com 800 µL etanol-etilacetato (1:1) e centrifugado por 10 min (15000 x g, a 4 °C). Em seguida, o *pellet* foi descartado, e 900 µL de ureia 8 M, dissolvida em tampão de KH₂PO₄ 20 mM (fosfato de potássio) com pH 2,3, foram adicionados ao precipitado. A mistura foi incubada em banho-maria por 30 min, a 60 °C e, depois, centrifugada por 10 min a 14000 x g, 4 °C. A absorbância da amostra foi lida em espectrofotômetro (360 nm), com a temperatura ajustada em 37 °C, e a albumina sérica bovina (BSA) foi usada como padrão. O conteúdo de grupos carbonil foi determinado, usando-se o coeficiente de

absortividade molar de 22.000 M.L⁻¹.cm⁻¹. Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteína.

4.8.7.7 Contagem de leucócitos no sangue

Alíquotas de sangue heparinizado (700 µL) foram analisadas em contador automatizado (Advia 60, *Bayer HealthCare, Diagnostics*, Nova Iorque-NY, EUA), para obtenção de leucograma. Por meio desse procedimento, foram coletados dados para a quantificação de leucócitos totais, granulócitos, monócitos e linfócitos presentes na circulação. A unidade de medida para essas células foi número x10³/µL na contagem absoluta e % na contagem relativa.

4.8.7.8 Citocinas IL-1β, IL-6 e TNF-α no soro

As concentrações séricas das citocinas IL-1β, IL-6 e TNF-α foram determinadas por meio do imunoenensaio enzimático, ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), usando-se kits comerciais, de acordo com as instruções do fabricante (BD Biosciences – OptEia®, San Diego-CA, EUA). A técnica baseia-se na interação dos antígenos (citocinas) presentes na amostra com anticorpos monoclonais específicos, previamente adsorvidos em poços de microplaca. Um segundo anticorpo monoclonal específico é adicionado, ligando-se ao antígeno imobilizado. Em seguida, acrescenta-se um conjugado contendo peroxidase, que se ligará ao segundo anticorpo. Por fim, adiciona-se um substrato da enzima, promovendo-se uma reação que resulta na formação de um produto colorido. Inicialmente, os poços da microplaca de leitura receberam o anticorpo de captura, e a placa foi incubada *overnight* a 4 °C. Após isto, os poços foram lavados três vezes com tampão de lavagem e, em seguida, 100 µL de diluente ELISA foram adicionados em cada poço, e as placas foram incubadas por 1 h à temperatura ambiente. Subsequentemente, a placa foi lavada novamente e, depois, foram adicionados 50 µL de cada padrão (IL-1β, IL-6 ou TNF-α) e de amostra, em duplicata, em poços apropriados. Após 2 h de incubação à temperatura ambiente, os poços foram lavados por mais cinco vezes. Em seguida, foram adicionados 50 µL de anticorpo de captura e conjugado estreptavidina-peroxidase de raiz forte em cada poço. Após incubação por 1 h à temperatura ambiente, a placa foi novamente lavada. Posteriormente, 50 µL de tetrametilbenzidina e peróxido de hidrogênio foram adicionados em cada poço e a placa foi incubada por 30 min à temperatura ambiente, no escuro. Por fim, foram adicionados 25 µL de solução de parada. Os resultados foram lidos em

leitor de ELISA (450 nm e 570 nm), e as concentrações das citocinas foram calculadas a partir da diferença entre as absorbâncias em 450 nm e 570 nm e as respectivas curvas-padrão.

4.8.7.9 Proteína c-Reativa de alta sensibilidade (PCR-as) no soro

A concentração sérica da PCR-as foi avaliada por imunonefelometria. Nesse método, são utilizadas partículas de poliestireno revestidas com anticorpo monoclonal anti-PCR que, ao se ligarem com a PCR no soro, aglutinam e dispersam a luz irradiada. A intensidade da luz dispersa depende da concentração da proteína na amostra. O procedimento foi realizado em Nefelômetro Behring BN II (*Siemens Healthcare Diagnostics Products - GMBH, Alemanha*), empregando-se reagentes comerciais da *Siemens Healthcare Diagnostic Inc* (Nova Iorque-NY, EUA). Foi utilizado como controle de qualidade, o RH Control SL/1 (*Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Nova Iorque, EUA*). Os resultados foram expressos em mg/L.

4.8.7.10 Expressão das proteínas CD11b e p47^{phox} em neutrófilos

Cem microlitros de sangue total heparinizado foram incubados (15 min, à temperatura ambiente) com 2 mL de tampão hemolisante (Pharmlyse, Becton Dickinson[®] (BD)-Biosciences, Franklin Lakes, NJ, EUA). Em seguida, a amostra foi lavada com 2 mL de tampão fosfato salino (PBS) 0,9% e centrifugada (400 x g, por 7 min). O sobrenadante foi descartado por inversão e as células foram incubadas com 1 mL solução de fixação (Cytifix, BD-Biosciences) a 4 °C, por 20 min. Após isso, as células foram lavadas com PBS (1 mL) e centrifugadas (400 x g por 7 min, à temperatura ambiente) por três vezes. A amostra foi, então, incubada (30 min, no escuro, à temperatura ambiente) com os anticorpos anti-CD11b humano conjugado à alofococianina (APC) (4 µL), anti-CD16 humano conjugado com R-Ficoeritina (PE) (2 µL) e IgG1 anti-p47^{phox} (1 µL) (BD-Biosciences) e 250 µL de tampão de permeabilização (Perm/Wash, BD-Biosciences). Logo após, as células foram lavadas e incubadas (30 min, no escuro, à temperatura ambiente) com o anticorpo anti-IgG1 conjugado a isotiocianato de fluoresceína (FITC). Em seguida, as células foram lavadas e re-suspendidas com PBSe a expressão das proteínas CD11b e p47^{phox} foi lida em citômetro de fluxo (BD FACSCanto II, Franklin Lakes, NJ, EUA), com contagem de 20.000 eventos.

A análise dos dados foi feita por meio do software Flowing[®], versão 2.5. Todas as marcações foram realizadas em duplicata e a

fluorescência mediana de cada amostra foi anotada. Após isso, para cada amostra, a média das marcações de fluorescência mediana foi calculada e, depois, subtraída da média da fluorescência sem o anticorpo (para descontar a fluorescência natural da célula). Os resultados foram expressos em intensidade média de fluorescência (unidades arbitrárias).

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos (absolutos ou variação percentual, $\Delta\%$) foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as variáveis com distribuição simétrica (direta ou após transformação logarítmica), a análise de variância com dois fatores para medidas repetidas (*two-way* RM-ANOVA) e o teste complementar de Tukey foram aplicados para detectar o efeito do tempo e do tratamento (chá mate ou controle) e as interações tempo x tratamento. Para as variáveis com distribuição assimétrica, o teste de Friedman e o teste de Tukey foram usados para detectar diferenças temporais dentro de cada tratamento; o teste de Wilcoxon foi empregado na comparação entre os tratamentos. Dependendo da distribuição Gaussiana das variáveis, o teste *t* de Student pareado ou o teste de Wilcoxon foram empregados para a comparação entre os tratamentos dos valores de $\Delta\%$ nos intervalos 24-48 h e 48-72 h pós-esforço. Os valores $\Delta\%$ foram calculados por meio da fórmula: $\Delta\% = ((\text{valor final} - \text{valor inicial})/\text{valor inicial}) \times 100$.

As comparações entre os consumos de energia e nutrientes, nos períodos de tratamento com chá mate e controle, foram feitas por meio do teste *t* de Student pareado ou por meio do teste de Wilcoxon, conforme a distribuição Gaussiana das variáveis. Para as comparações entre as proporções de indivíduos nas categorias de adequação do consumo nutricional foi usado o teste chi-quadrado de aderência com correção de Yates.

Para o fornecimento de uma medida padronizada da magnitude da diferença entre chá mate e controle, o tamanho do efeito foi calculado. Para variáveis simétricas, empregou-se a estatística *d* de Cohen, usando-se a média e desvio padrão (COHEN, 1992; DUNLAP et al., 1996). O tamanho do efeito foi interpretado como: trivial ($d < 0,20$), pequeno (d entre 0,20 e 0,49), médio (d entre 0,50 e 0,79) e grande ($d > 0,80$). Para variáveis assimétricas, o tamanho do efeito foi determinado usando-se a estatística delta (δ) de Cliff. O tamanho do efeito foi interpretado como negligível ($\delta < 0,147$), pequeno (δ entre 0,147 e

0,33), médio (δ entre 0,33 e 0,474) ou forte ($\delta > 0,474$) (ROMANO, 2006 apud PERROT et al., 2014).

As associações bivariadas foram examinadas por meio do coeficiente de correlação de Pearson ou do coeficiente de correlação de Spearman, de acordo com a distribuição Gaussiana dos dados. Nessas análises, foram considerados os valores pós-esforço absolutos e relativos (i.e. $\Delta\%$ Pré-0 h, Pré-24 h, Pré-48 h, Pré-72 h, 0-24 h, 0-48 h, 0-72 h, 24-48 h e 48-72 h).

O nível de significância adotado foi igual ou menor a 5% ($p \leq 0,05$). Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão, mediana e intervalo interquartil (25%-75%) ou percentual (%). As análises das variáveis de força muscular, bioquímicas e nutricionais foram realizadas, usando-se o programa SigmaPlot, versão 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA). Para o cálculo do d de Cohen, e respectivo intervalo de confiança de 95% (IC 95%), utilizou-se calculadora de tamanho do efeito, em planilha do Excel, disponível *online* (<http://www.cem.org/effect-size-calculator>). O delta de Cliff foi calculado por meio do *software "The Cliff's Delta Calculator"* (MacBETH; RAZUMIEJCZYK; LDESMA, 2011).

4.10 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O estudo foi realizado de acordo com as diretrizes e normas da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde (BRASIL, 2012) e a Declaração de Helsinki (WHA, 2013). Os voluntários participaram do estudo somente após a assinatura do TCLE (Apêndice G), por meio do qual foram informados acerca do propósito, benefícios e riscos da pesquisa.

Todas as informações ligadas à identidade dos participantes foram mantidas sob sigilo, na sala do pesquisador principal, tendo acesso às mesmas, somente os autores do estudo. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sob o CAAE 16832613.8.0000.0121 (Anexo B). Número de identificação no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC): RBR-5pj5bb.

5 RESULTADOS

O Apêndice H contém os valores descritivos, as significâncias e os tamanhos dos efeitos (IC95%) das comparações intra e intergrupos relativos aos resultados apreendidos em gráficos ou citados no texto.

5.1 TEORES DE FENÓIS TOTAIS, ÁCIDOS FENÓLICOS, SAPONINAS TOTAIS, CAFEÍNA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO CHÁ MATE

As concentrações de compostos fenólicos totais, ácidos fenólicos, saponinas totais e cafeína presentes no chá mate – preparado, diluindo-se 1 g de mate solúvel liofilizado em 200 mL de água – são apresentados na Tabela 1. Os principais compostos fenólicos encontrados no chá mate foram aqueles pertencentes à família de ácidos clorogênicos, seguidos de ácido gálico e ácido caféico. A concentração de cafeína no mate foi de 17,1 mg/g, sendo que as demais metilxantinas, teobromina e teofilina não foram detectadas.

Considerando o consumo de 600 mL/dia de chá mate (3 g de chá mate solúvel liofilizado), concluiu-se que os participantes ingeriram diariamente, durante o período de suplementação, 890 mg de compostos fenólicos, 142 mg de saponinas e 51,3 mg de cafeína, por meio do chá mate. A capacidade antioxidante do chá mate, determinada por meio do FRAP, foi de $8,36 \pm 0,91$ $\mu\text{mol/mL}$ ou $1,67 \pm 0,18$ mmol/g .

Tabela 1 – Concentrações de fenólicos totais, de ácidos fenólicos, de saponinas e de cafeína presentes no chá mate.

Compostos do chá mate	mg/g	$\mu\text{g/mL}$
Fenólicos totais	$296,3 \pm 8,47$	$1482,3 \pm 41,5$
Ácidos clorogênicos:		
Ácido 5-cafeoilquínico	$22,5 \pm 1,5$	$112,7 \pm 7,6$
Ácido 3,5-dicafeoilquínico	$21,3 \pm 1,2$	$106,3 \pm 5,8$
Ácido 4-cafeoilquínico	$20,1 \pm 1,1$	$100,5 \pm 5,5$
Ácido 3,4-cafeoilquínico	$13,5 \pm 0,8$	$67,7 \pm 4,2$
Ácido 3-cafeoilquínico	$12,8 \pm 1,0$	$63,8 \pm 5,1$
Ácido 4,5-cafeoilquínico	$0,9 \pm 0,7$	$4,5 \pm 3,7$
Ácido gálico	$3,2 \pm 0,3$	$16,2 \pm 1,4$
Ácido caféico	$0,5 \pm 0,00$	$2,3 \pm 0,01$
Saponinas totais	$47,3 \pm 1,4$	$236,3 \pm 9,6$
Cafeína	$17,1 \pm 0,9$	$85,8 \pm 1,9$

Os resultados são médias de preparações em triplicata. Valores em média \pm DP.

5.2 INDIVÍDUOS

Os dados demográficos, antropométricos e de força isométrica máxima basal dos 20 participantes que completaram o estudo estão apresentados na Tabela 2.

Ressalta-se que o percentual de gordura corporal e o IMC dos participantes adequavam-se às recomendações (PETROSKI, 2011; WHO, 2000). Os valores de pico de torque isométrico basal não foram significativamente diferentes, após a randomização para os grupos chá mate e controle. De modo geral, todos os participantes eram fisicamente ativos, sendo que, segundo a classificação do IPAQ, 75% eram ativos e 25% muito ativos (Tabela 3 e Apêndice D).

A ocorrência de possíveis efeitos colaterais do consumo de chá mate, tais como taquicardia, insônia, azia, ansiedade e irritação gástrica (KLEIN et al., 2012; FERNANDES et al., 2012) não foi relatada por nenhum dos participantes.

Tabela 2 – Dados demográficos, antropométricos e de pico de torque isométrico dos indivíduos no período basal, após randomização para os grupos chá mate e controle.

Variáveis	Geral (n = 20)	Chá Mate (n = 9)	Controle (n = 11)	P
Idade (anos)	24,6 ± 3,8	23,9 ± 4,6	25,2 ± 3,2	0,464
Estatura (cm)	175,1 ± 6,3	178,0 ± 4,9	172,8 ± 6,5	0,063
Massa corporal (kg)	75,7 ± 13,1	81,5 ± 15,2	70,9 ± 9,5	0,073
IMC (kg/m ²)	24,5 ± 3,3	25,7 ± 3,7	23,4 ± 2,7	0,899
Gordura corporal (%)	16,6 ± 5,1	16,7 ± 4,8	16,4 ± 5,5	0,128
Pico de torque isométrico (N.m)	73,7 ± 12,5	72,5 ± 8,9	71,0 ± 10,7	0,760

IMC, Índice de Massa Corporal. Valores em média ± DP. Teste *t* de Student.

Tabela 3 – Proporção de indivíduos nos níveis de classificação do IPAQ.

Classificação	N	%
Muito ativo	5	25
Ativo	15	75
Irregularmente ativo A	0	0
Irregularmente ativo B	0	0
Sedentário	0	0

IPAC, Questionário Internacional de Atividade Física. N=20

5.3 CONSUMO DIETÉTICO

5.3.1 Consumo habitual

A Tabela 4 apresenta a distribuição percentual de indivíduos nas categorias de frequência de consumo de alimentos. A análise dos resultados sugeriu que, dentre os grupos de alimentos fontes de carboidratos, os grupos dos cereais e dos pães foram os mais habitualmente ingeridos (90% e 100% dos indivíduos, respectivamente), considerando as duas categorias de maior frequência de consumo (i.e. 4-5 x/semana (sem) e 6-7x/sem, respectivamente).

Quanto ao grupo das raízes e tubérculos, 75% dos indivíduos consumiam esses alimentos pelo menos 2x/sem, sendo que 35% os ingeriam 4-5x/sem. A maioria (85%) dos participantes nunca ou raramente consumia alimentos do grupo "cereais integrais", enquanto que as leguminosas eram regularmente ($\geq 4x/sem$) consumidas por metade dos participantes.

Dentre os grupos das fontes protéicas, os das carnes vermelhas e dos embutidos tiveram maiores percentuais de indivíduos (75% e 65%, respectivamente) com frequências de consumo $\geq 4x/sem$; ao passo que no grupo das carnes brancas o consumo foi $\leq 3x/sem$ em 75% dos indivíduos. Dentre os laticínios, o grupo do leite e derivados integrais foi consumido, pelo menos, 4x/sem por 70% dos indivíduos. Quanto aos laticínios tipo *light*, 85% dos participantes os consumiam $\leq 1x/sem$, enquanto que um pequeno percentual (10%) os consumia frequentemente (6-7x/sem).

Mais da metade dos indivíduos nunca ou raramente consumiam alimentos do grupo das gorduras (i.e. margarina, manteiga, azeite); 30% relataram consumi-los $\geq 4x/sem$. No grupo dos folhosos, a frequência de consumo era $\leq 3x/sem$ em 75% dos indivíduos, sendo que, em 30%, esses alimentos nunca ou raramente foram ingeridos. De forma semelhante, nos grupos "sopas e legumes" e "frutas e suco natural", 75% dos indivíduos tinham frequências de consumo $\leq 3x/sem$.

O consumo de *fast-foods* (grupo "salgados") era $\leq 3x/sem$ em 70% dos participantes; entretanto, 10% dos indivíduos consumiam este tipo de alimento 4-5x/sem. A frequência de consumo de "doces e guloseimas" era $\leq 1x/sem$ em 80% dos participantes; enquanto que nenhum indivíduo consumia bebidas alcoólicas mais do que 1x/semana, e 60% nunca ou raramente as ingeriam. O consumo de refrigerantes era $\leq 3x/sem$ entre a maioria (95%) dos indivíduos, sendo que 40% consumiam 1x/semana esse tipo de bebida.

Tabela 4 – Percentual de indivíduos nas categorias de frequência de consumo de alimentos^a. (continua)

Alimento	Frequência de consumo				
	Nunca/raramente	1x/sem	2- 3x/sem	4- 5x/sem	6- 7x/sem
Carnes brancas	0	10	65	0	25
Carnes vermelhas	5	5	15	45	30
Embutidos (ex. salsicha, mortadela) e presunto	5	0	30	45	20
Cereais (ex. arroz, macarrão)	0	0	10	15	75
Cereais integrais	85	15	0	0	0
Leite e derivados integrais (ex. queijo, iogurte)	5	5	20	25	45
Leite e derivados <i>light</i>	80	5	5	0	10
Gorduras (ex. margarina, manteiga, azeite)	60	0	10	15	15
Pães	0	0	0	40	60
Biscoitos e bolos	20	5	65	10	0
Leguminosas (ex. feijão, lentilha)	30	15	5	10	40

Tabela 4 – Percentual de indivíduos nas categorias de frequência de consumo de alimentos^a. (conclusão)

Alimento	Frequência de consumo				
	Nunca/raramente	1x/sem	2- 3x/sem	4- 5x/sem	6- 7x/sem
Raízes e tubérculos (ex. batata, mandioca)	10	15	40	35	0
Folhosos (ex. espinafre, alface, couve, rúcula)	30	25	20	15	10
Sopas e legumes (ex. cenoura, beterraba, abóbora)	25	40	10	15	10
Frutas e suco natural	0	35	40	15	10
Salgados (pizza, hambúrguer, pastel)	15	45	30	10	0
Doces e guloseimas	10	70	10	5	5
Bebidas alcoólicas	60	40	0	0	0
Bebidas não-alcoólicas (refrigerante)	20	20	55	5	0

x, vezes; sem, semana. ^aAvaliado por meio de questionário de frequência de consumo alimentar (QFA). N= 20.

5.3.2 Consumo atual

Dezoito participantes (90%) retornaram os RD-3, preenchidos durante os períodos de tratamento com chá mate (período chá mate) ou água (período controle). As ingestões diárias de energia,

macronutrientes e micronutrientes, são apresentadas na Tabela 5. Elevada variabilidade interindividual ocorreu no consumo de lipídeos, das vitaminas E, C e A e dos minerais cobre e manganês (valores apresentados em mediana e intervalo interquartil) em ambos os períodos. Contudo, não houve diferenças significativas entre os períodos com relação à ingestão de energia bem como dos macronutrientes e micronutrientes analisados. A ingestão diária de cafeína mostrou grande variação entre os participantes, mas não foi diferente entre os períodos chá mate e controle. Ressalta-se que, em ambos os grupos, a quantidade de cafeína consumida por dia foi igual ou menor do que a ingerida por meio da ingestão de uma xícara de infusão de café, de 60 mL (CAMARGO; TOLEDO, 1998) ou de 200 mL de chá mate (MAZZAFERA, 1997; BASTOS et al., 2005).

Tabela 5 – Ingestões diárias^a de energia, macronutrientes, micronutrientes e cafeína, nos períodos com consumo de chá mate ou controle.

Nutriente	Chá mate	Controle	Valor-p
Energia (kcal)	2427,8 ± 544,4	2350,0 ± 549,6	0,334
Carboidrato (g)	320,9 ± 108,1	300,3 ± 113,0	0,191
Proteína (g)	122,7 ± 26,2	124,2 ± 34,6	0,782
Lipídeos (g)	72,8 (61,3–81,4)	70,8 (61,6–92,9)	0,622
Vitamina E (mg)	10,7 (7,2–16,2)	10,5 (7,4–13,1)	0,519
Vitamina C (mg)	93,8 (65,5–163,3)	104,5 (42,5–147,6)	0,266
Vitamina A (µg) ^b	596,0 (207,8–1155,9)	566,9 (251,8–829,9)	0,850
Zinco (mg)	13,3 ± 5,7	13,9 ± 5,8	0,376
Cobre (µg)	1150,0 (925,0–1441,7)	1141,7 (975,0–1415,0)	0,700
Manganês (mg)	2,5 (1,3–3,0)	2,4 (1,3–3,0)	0,839
Selênio (µg)	123,6 ± 34,0	118,5 ± 13,1	0,641
Cafeína (mg)	10,0 (0,0–34,5)	14,0 (0,0–33,0)	0,742

^aAvaliadas a partir dos registros dietéticos de 3 dias; não foi considerado a suplementação de chá mate. Valores em média ± DP ou mediana (25%-75%).

^bComo equivalentes de atividade de retinol (RAE). N= 18.

O Apêndice J1 apresenta a proporção de indivíduos, segundo a adequação qualitativa do consumo de energia e de macronutriente, nos períodos chá mate ou controle. Metade dos participantes teve consumo de energia inadequado, em ambos os períodos de tratamento. Além disso, o consumo de carboidrato foi inadequado para 17% e 28% dos participantes, nos períodos chá mate e controle, respectivamente. Por outro lado, todos os indivíduos avaliados atingiram as recomendações de ingestão protéica, em ambos os períodos. Apesar de mais da metade dos participantes terem consumido lipídeos adequadamente em ambos os períodos, houve consumo excessivo de lipídeos por 11% e 29% dos indivíduos, durante os períodos com chá mate e controle, respectivamente. Esses resultados se opõem à observação, sugerida pelo QFA, de que mais da metade dos participantes relatou nunca/raramente consumir alimentos do grupo das gorduras, o que pode, portanto, ter refletido a limitação do instrumento (QFA) quanto, por exemplo, a ausência de estimativa da quantidade consumida dos alimentos e a lista restrita de itens alimentares nos grupos.

A proporção de indivíduos, segundo a adequação do consumo de micronutrientes antioxidantes, durante os períodos chá mate ou controle, está apresentada no Apêndice J2. Mais de 70% dos indivíduos tiveram consumo inadequado de vitamina E e de vitamina A, nos períodos chá mate e controle; enquanto que a ingestão de vitamina C foi inadequada para cerca de metade dos indivíduos, independentemente do período de tratamento. O consumo de zinco foi adequado em cerca de 70% dos participantes, nos grupos chá mate e controle; ao passo que mais de 80% dos participantes ingeriram cobre adequadamente, em ambos os períodos. O consumo de manganês foi inadequado em cerca de 40% dos indivíduos, nos períodos chá mate e controle; por outro lado, em ambos os períodos, todos os participantes ingeriram selênio adequadamente.

A Tabela 6 mostra a comparação entre as proporções de indivíduos nos períodos chá mate e controle, considerando as categorias de adequação do consumo de energia e de macronutrientes. Nota-se que a proporção de indivíduos com consumo inadequado/insuficiente de carboidratos foi significativamente maior ($P = 0,010$) no período controle, comparado ao período chá mate. Na categoria de consumo excessivo de lipídeos, a proporção de indivíduos, também, foi significativamente mais elevada ($P < 0,001$) durante o período controle. Não houve diferenças significativas entre as proporções de indivíduos, nas categorias de adequação do consumo de energia e de proteína, nos períodos chá mate ou controle.

Tabela 6 – Proporções de indivíduos nos períodos com consumo de chá mate ou controle, segundo as categorias de adequação do consumo de energia^a e de macronutrientes.

	Adequado		Inadequado/ Insuficiente		Excessivo	
	N	%	n	%	N	%
Energia						
Chá mate	9	52,9	9	47,3	0	0
Controle	8	47,1	10	52,7	0	0
P		0,620		0,650		-
Carboidrato						
Chá mate	15	53,6	3	37,5	0	0
Controle	13	46,4	5	62,5	0	0
P		0,530		0,010*		-
Proteína						
Chá mate	18	50,0	0	0	0	0
Controle	18	50,0	0	0	0	0
P		1,000		-		-
Lipídeos						
Chá mate	16	57,1	0	0	2	28,6
Controle	12	42,9	1	100	5	71,4
P		0,180		-		<0,001*

^aAdequação qualitativa do consumo individual conforme as respectivas DRIs (IOM, 2005): energia, EAR + 2 DP; carboidrato, 45% a 65% do valor energético total (VET); proteína, 10% a 35% do VET; lipídeo, 25% a 35% do VET. Teste Qui-quadrado de aderência com correção de Yates. N= 18.

A Tabela 7 mostra a comparação entre as proporções de indivíduos nos períodos chá mate e controle, segundo as categorias de adequação do consumo das vitaminas E, C e A e dos minerais, zinco, cobre, manganês e selênio. Observa-se que a proporção de indivíduos que consumiram vitamina E adequadamente foi significativamente menor ($P = 0,010$) no período controle, em comparação ao período chá mate. Apesar disso, a proporção de indivíduos com consumo inadequado de vitamina E não foi significativamente diferente entre os períodos de tratamento. Não houve diferenças significativas entre as proporções de indivíduos nos períodos chá mate ou controle, nas categorias de adequação do consumo, com relação ao demais micronutrientes antioxidantes avaliados.

Tabela 7 – Proporções de indivíduos nos períodos com consumo de chá mate ou controle, segundo as categorias de adequação do consumo^a das vitaminas E, C e A e dos minerais, zinco, cobre, manganês e selênio.

	Adequado		Inadequado	
	N	%	N	%
Vitamina E				
Chá mate	5	62,5	13	46,4
Controle	3	37,5	15	53,6
P		0,010*		0,530
Vitamina C				
Chá mate	9	47,4	9	52,9
Controle	10	52,6	8	47,1
P		0,670		0,630
Vitamina A ^b				
Chá mate	5	55,6	13	48,1
Controle	4	44,4	14	51,9
P		0,300		0,770
Zinco				
Chá mate	12	48,0	6	54,6
Controle	13	52,0	5	45,4
P		0,760		0,410
Cobre				
Chá mate	15	50,0	3	50,0
Controle	15	50,0	3	50,0
P		1,000		1,000
Manganês				
Chá mate	11	50,0	7	50,0
Controle	11	50,0	7	50,0
P		-		-
Selênio				
Chá mate	20	50,0	0	0
Controle	20	50,0	0	0
P		-		-

^aAdequação qualitativa do consumo individual conforme as respectivas DRIs (IOM, 2005). ^bEquivalentes de atividade de retinol (RAE). Teste Qui-quadrado de aderência com correção de Yates.. N =18.

5.4 MARCADORES DE DANO MUSCULAR

5.4.1 Função muscular

O trabalho (N.m) realizado durante o protocolo de dano muscular não diferiu significativamente entre os grupos chá mate e controle (Tabela 8). Os valores de picos de torque isométrico (PT_{iso}), concêntrico (PT_{conc}) e excêntrico (PT_{exc}) no período BASAL foram, respectivamente, $71,8 \pm 9,7$ N.m, $57,5 \pm 12,9$ N.m e $64,6 \pm 12,4$ N.m. Na comparação entre o BASAL e o pré-dano, os valores de PT_{iso} , PT_{conc} e PT_{exc} , foram similares, em ambos os grupos (Apêndice H1).

Tabela 8 – Trabalho (N.m) realizado durante o protocolo de exercício excêntrico com os músculos flexores do cotovelo, nos grupos chá mate e controle.

	Trabalho realizado			
	1ª série	2ª série	3ª série	Total
Chá mate	959,7 ±	820,7 ±	725,01 ±	2505,39 ±
	171,1	208,1	193,8	513,9
Controle	1010,7 ±	843,9 ±	750,72 ±	2605,32 ±
	254,4	222,9	199,7	621,3
Valor-p	0,454	0,733	0,643	0,583
TE	-0,24 (-0,89- 0,43)	-0,11 (- 0,76-0,55)	-0,13 (-0,78- 0,53)	-0,18 (-0,83- 0,48)

Teste *t* de Student. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%).

5.4.1.1 Pico de torque isométrico

Os valores absolutos do PT_{iso} antes (PRÉ) e após o dano muscular e a variação percentual ($\Delta\%$) no PT_{iso} no pós-dano em relação ao PRÉ estão apresentados nas Figuras 12A (e Apêndice H2) e 12B (e Apêndice H3), respectivamente. Conforme esperado, os valores absolutos do PT_{iso} no PRÉ não foram significativamente diferentes entre os indivíduos dos grupos chá mate e controle ($73,07 \pm 14,98$ N.m vs $70,21 \pm 10,27$ N.m). Logo após o dano (0 h), o PT_{iso} foi significativamente menor, em comparação ao PRÉ, independentemente do consumo de chá mate ou de água ($P < 0,001$) (Figura 12A). O decréscimo imediato no PT_{iso} (0 h) foi superior a 33%, sem diferenças entre os grupos (Figura 12B). Os valores do PT_{iso} permaneceram abaixo dos valores do PRÉ até 72 h (Fig. 12A; $P < 0,001$), com déficit superior a 20% em ambos os grupos ($P < 0,001$; Fig. 12B). Entretanto, em

comparação a 0 h, o déficit no PT_{iso} no grupo chá mate atenuou significativamente logo nas primeiras 24 h ($P < 0,001$), permanecendo constante até 72 h (Fig. 12B). Além disso, em 24 h, o déficit no PT_{iso} foi significativamente menor no chá mate do que no controle ($P = 0,025$; Fig. 12B), sendo o tamanho do efeito médio ($d = 0,65$). A taxa de recuperação no PT_{iso} entre 0 e 24 h ($\Delta\%$ 0-24 h) no grupo chá mate foi de 21,9% ($P < 0,001$) e 6,2 vezes maior que no grupo controle ($P < 0,001$), sendo o tamanho do efeito grande ($d = 1,26$) (Apêndice H4).

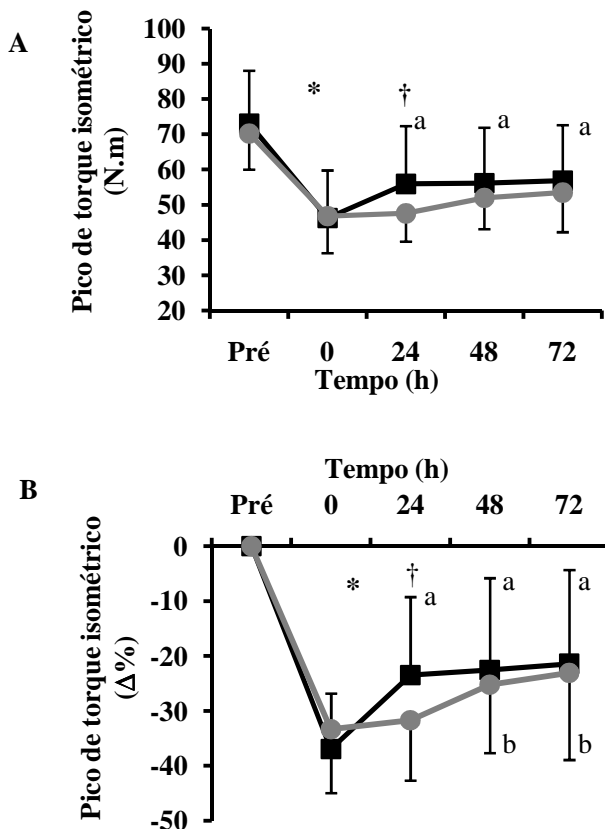
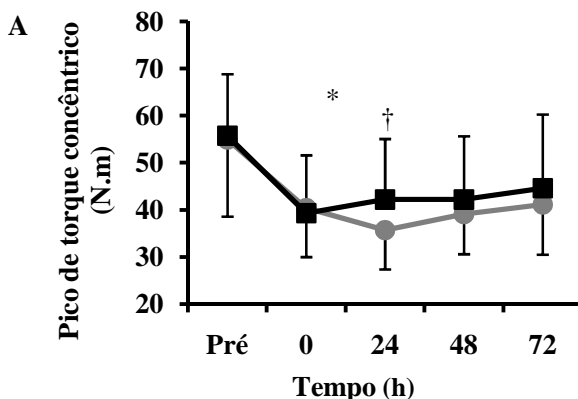


Figura 12 – Pico de torque isométrico dos músculos flexores do cotovelo expresso em valores absolutos antes (PRÉ) e após do dano muscular excêntrico (A) e variação percentual ($\Delta\%$) em relação ao PRÉ (B), nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. *Interação tempo x tratamento ($P < 0,05$). †Significativamente diferente entre os grupos ($P < 0,05$). ^a $P < 0,001$ e ^b $P < 0,05$, comparado a 0 h. Valores em média \pm DP. N=20.

5.4.1.2 Pico de torque concêntrico

Os valores absolutos do PT_{conc} antes e após o dano muscular e a variação percentual ($\Delta\%$) no PT_{conc} no pós-dano em relação ao PRÉ estão apresentados nas Figuras 13A (e Apêndice H5) e 13B (e Apêndice H6), respectivamente. Os valores do PT_{conc} no PRÉ não diferiram significativamente entre os indivíduos dos grupos chá mate e controle ($56,77 \pm 13,05$ N.m vs $54,96 \pm 16,43$ N.m). Em 0 h após o dano, os valores do PT_{conc} diminuíram significativamente, em relação ao PRÉ, independentemente do grupo ($P < 0,001$), e foram semelhantes entre os grupos (Figura 13A). O déficit imediato no PT_{conc} foi superior a 24% ($P > 0,001$; Figura 13B) e não foi diferente entre o chá mate e o controle. Em ambos os grupos, o PT_{conc} permaneceu inferior aos valores do PRÉ até 72 h (Figura 13A; $P < 0,001$), com déficit igual ou maior que 20% ($P < 0,001$; Figura 13B). No entanto, o déficit no PT_{conc} em relação ao PRÉ, no grupo chá mate, foi significativamente menor em 72 h, em comparação a 0 h (Figura 13B; $P < 0,030$). No grupo controle, o déficit no PT_{conc} não se alterou significativamente, em relação a 0 h, até 72 h (Figura 13B). Além disso, em 24 h, o déficit no PT_{conc} foi significativamente menor no chá mate do que no controle ($P = 0,032$; Fig. 12B), sendo o tamanho do efeito médio ($d = 0,56$). Entre 0 e 24 h após o dano, o PT_{conc} recuperou 10%, no grupo chá mate, e, por outro lado, mostrou queda adicional de 10%, no grupo controle. Conseqüentemente, a recuperação no PT_{conc} no primeiro dia após o dano foi 20% maior ($P < 0,001$) no grupo chá mate, do que controle, sendo o tamanho efeito grande ($d = 1,00$) (Apêndice H7).



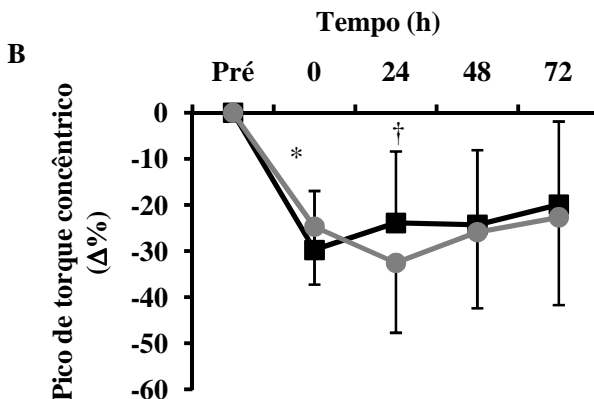


Figura 13 – Pico de torque concêntrico dos músculos flexores do cotovelo expresso em valores absolutos antes (PRÉ) e após do dano muscular excêntrico (A) e variação percentual ($\Delta\%$) em relação ao PRÉ (B), nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. *Interação tempo x tratamento ($P < 0,05$). †Significativamente diferente entre os grupos ($P < 0,05$). ‡ $P < 0,05$, comparado a 0 h. Valores em média \pm DP. N

5.4.1.3 Pico de torque excêntrico

Os valores absolutos do PT_{exc} antes e após o dano muscular e a variação percentual ($\Delta\%$) no PT_{exc} no pós-dano em relação ao PRÉ estão apresentados nas figuras 14A (e Apêndice H8) e 14B (e Apêndice H9), respectivamente. Os valores do PT_{exc} no PRÉ foram semelhantes entre os indivíduos dos grupos chá mate e controle ($63,73 \pm 11,42$ N.m vs $62,41 \pm 11,56$ N.m). Em 0 h, o PT_{exc} foi significativamente menor, em relação ao PRÉ, independente do tratamento ($P < 0,001$), e não diferiram entre os grupos (Figura 14A). O déficit imediato no PT_{exc} foi superior a 30% ($P > 0,001$; Figura 13B) e foi similar entre os grupos chá mate e controle. Em ambos os grupos, o PT_{exc} manteve-se inferior aos valores do PRÉ até 72 h (Figura 14A; $P < 0,001$), com déficit igual ou maior que 20% ($P < 0,001$; Figura 14B). Contudo, o déficit no PT_{exc} em relação ao PRÉ, no grupo chá mate, foi significativamente menor em 72 h, em comparação a 0 h (Figura 14B; $P < 0,001$). No grupo controle, o déficit no PT_{exc} não se alterou de forma significativa até 72 h (Figura 14B). A taxa de recuperação no PT_{exc} não foi significativamente diferente entre os grupos chá mate e o controle até 48 h após o dano (Apêndice H10). Entre 48 e 72 h, a recuperação no PT_{exc} tendeu ($P =$

0,057) a ser maior no grupo chá mate do que no controle, sendo o tamanho do efeito médio ($d = 0,68$).

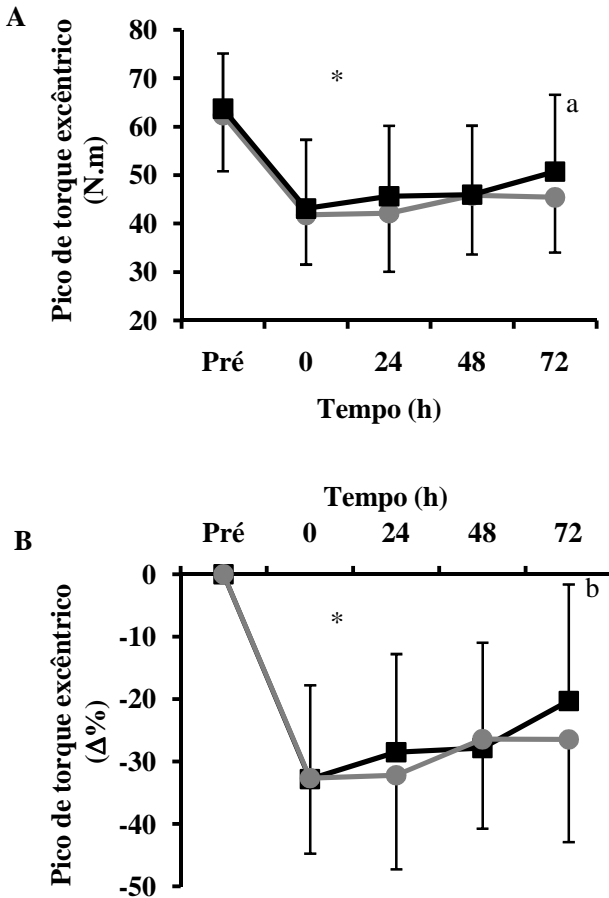


Figura 14 – Pico de torque excêntrico dos músculos flexores do cotovelo expresso em valores antes (PRÉ) e após do dano muscular excêntrico (A) e variação percentual ($\Delta\%$) em relação ao PRÉ (B), nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. *Efeito do tempo ($P < 0,001$). ^a $P < 0,05$ e ^b $P = 0,001$, comparado a 0 h. Valores em média \pm DP. $N=20$.

5.4.2 Atividade sérica das enzimas creatina quinase e aldolase

A atividade da creatina quinase no soro antes e após o dano muscular foi similar entre o chá mate e o controle (Tabela 9). Em ambos os grupos, a atividade da creatina quinase aumentou progressivamente em 24 e 48 h, porém, de forma não significativa em relação ao PRÉ. Após 72 h, a atividade da creatina quinase elevou para valores significativamente maiores ($P < 0,05$) que no PRÉ nos grupos chá mate (370%) e controle (381%), sem diferença significativa entre eles.

A atividade sérica da aldolase no PRÉ, foi 102,8% menor no chá mate ($P < 0,001$), em comparação ao controle ($P < 0,001$), e o tamanho do efeito foi forte ($\delta = -0,57$). Após o dano, a atividade da aldolase, no grupo chá mate, aumentou (29,0%; $P < 0,05$) em comparação ao PRÉ, em 48 h, e retornou a valores semelhantes ao PRÉ após 72 h. No grupo controle, a atividade da aldolase foi significativamente maior em 24 h ($P < 0,05$) em comparação ao PRÉ, voltando aos valores basais após 48 e 72 h (Tabela 9). Em 24 h, a atividade da aldolase foi ~52% menor ($P < 0,001$) no chá mate que no controle (tamanho do efeito forte, $\delta = -0,71$). Em 48 h, a atividade da aldolase tendeu a ser menor (~37%; $P = 0,081$) no chá mate que no controle (tamanho do efeito médio, $\delta = -0,39$). Em 72 h, atividade da aldolase foi ~52% menor no chá mate que no controle, e, embora esta diferença não tenha sido significativa ($P = 0,154$), o tamanho do efeito foi médio ($\delta = -0,36$).

Tabela 9 – Atividade das enzimas creatina quinase e aldolase no soro antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle. (continua)

	Atividade (U/L)		Valor-p ^a	TE
	Chá mate	Controle		
CK				
PRÉ	153,5 (101,3–240,8)	156,0 (108,3–398,8)	0,523	<-0,147
24 h	313,5 (204,1–492,8)	282,0 (170,8–813,8)	0,265	<-0,147
48 h	349,5 (174,8–730,8)	287,5 (178,0–1852,8)	0,442	<-0,147
72 h	721,5 (198,5–4253,9)*	750,5 (253,8–2913,8)*	0,284	<-0,147

Tabela 9 – Atividade das enzimas creatina quinase e aldolase no soro antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle. (conclusão)

	Atividade (U/L)		Valor-p ^a	TE
	Chá mate	Controle		
Aldolase				
PRÉ	3,8 (2,8–5,0)	8,1 (4,8–11,2)	<0,001	-0,57
24 h	5,0 (3,1–7,2)	10,4 (6,80–11,8)*	<0,001	-0,71
48 h	4,9 (3,9–9,2)*	7,7 (5,88–11,7)	0,081	-0,39
72 h	4,0 (2,7–8,4)	8,2 (4,60–10,7)	0,154	-0,36

PRÉ, pré-exercício. CK, creatina quinase. Teste de Friedman e teste de Tukey.

*P < 0,05, comparado ao PRÉ. ^aTeste de Wilcoxon (comparação dos grupos).

Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N =20.

5.5 CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS NO PLASMA

A concentração plasmática de compostos fenólicos totais no antes do dano muscular foi $16,7 \pm 2,9$ mg EAC/L e $14,2 \pm 3,6$ mg de EAC/L, nos indivíduos dos grupos chá mate e controle, respectivamente. Em ambos os grupos, a concentração de fenólicos totais não foi significativamente diferente entre os períodos PRÉ e pós-dano, porém, mostrou mudanças significativas ao longo do tempo (efeito do tempo $P < 0,001$). Entretanto, a concentração de fenóis totais foi significativamente maior no chá mate que no controle, nos tempos PRÉ (~18%; $P = 0,002$; tamanho do efeito grande, $d = 0,83$), 24 h (~22%; $P < 0,001$; tamanho do efeito médio, $d = 0,66$) e 72 h pós-esforço (~18%; $P = 0,007$; tamanho do efeito médio, $d = 0,70$). Em 48 h, a concentração de fenóis totais tendeu a ser maior no chá mate (~18%; $P = 0,075$), comparado ao controle (tamanho do efeito médio, $d = 0,50$) (Figura 15 e Apêndice H 15). A concentração de fenóis totais não variou significativamente ao longo do pós-dano, no chá mate. No entanto, no controle, em 48 h, aumentou 10% ($P < 0,050$) em relação ao PRÉ, mas não foi diferente do grupo chá mate (Apêndice H16).

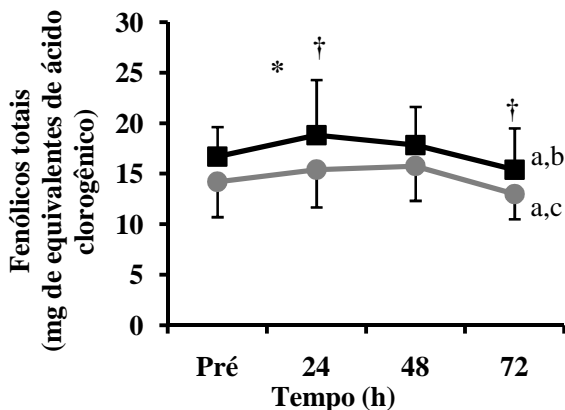


Figura 15 – Concentração de fenólicos totais no plasma antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tempo ($P < 0,001$). *Efeito do tratamento ($P < 0,002$). †Significativamente diferente entre os grupos ($P < 0,05$). ^a $P < 0,05$, comparado a 24 h. ^b $P < 0,05$, comparado a 48 h. ^c $P < 0,001$, comparado a 48 h. Valores em média \pm DP. $N = 20$.

5.6 MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO

5.6.1 Status de glutatona no sangue

A concentração sanguínea de GSH antes do dano muscular foi 17,4% ($P = 0,001$) maior no grupo chá mate ($6,27 \pm 0,99 \mu\text{mol/gHb}$), em comparação ao controle ($5,34 \pm 0,70 \mu\text{mol/gHb}$) (Figura 16 e Apêndice H18). Além disso, a concentração de GSH foi 19,2% ($P = 0,003$) e 25,0% ($P < 0,001$) maior no chá mate do que no controle em 48 e 72 h pós-dano (efeito do tratamento $P < 0,001$). O tamanho do efeito foi grande nos períodos PRÉ, 48 e 72 h ($d = 1,08$; $d = 0,91$ e $d = 1,13$, respectivamente). O dano muscular não alterou as concentrações de GSH no grupo chá mate. Porém, no grupo controle, os valores de GSH tiveram uma variação percentual negativa (-6,4%; $P = 0,016$) entre o PRÉ e 72 h (Apêndice H19). Além disso, a concentração de GSH diminuiu 16,6% ($P = 0,022$) em 72 h, em comparação a 24 h (Figura 16 e Apêndice H18).

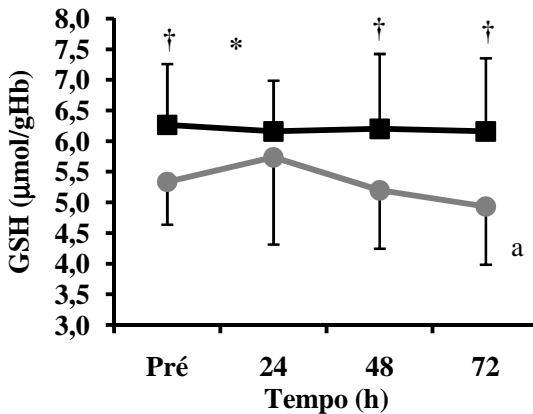


Figura 16 – Concentração de glutatona reduzida (GSH) no sangue antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. *Efeito do tratamento ($P < 0,001$). †Significativamente diferente entre os grupos ($P < 0,05$). ^a $P < 0,05$, comparado a 24 h. Valores em média \pm DP. $N = 20$.

A concentração de GSSG no sangue antes do dano muscular foi similar entre os grupos chá mate e controle ($0,015 \pm 0,007 \mu\text{mol/gHb}$ vs $0,018 \pm 0,007 \mu\text{mol/gHb}$). Ao longo do período pós-dano, a concentração de GSSG não modificou de forma significativa, em ambos os grupos (Figura 17 e Apêndice H21).

De forma semelhante, a razão GSH/GSSG não diferiu significativamente entre os períodos PRÉ e pós-dano, nos grupos chá mate e controle, havendo, entretanto, efeito do tratamento ($P = 0,027$). A razão GSH/GSSG nos períodos PRÉ e 24 h pós-dano foi, respectivamente, 36,4% e 62,2% maior no chá mate que no controle e, embora essas diferenças não tenham sido significativas ($P = 0,127$ e $0,084$, respectivamente), os tamanhos dos efeitos foram médios ($d = 0,61$ e $0,62$, respectivamente). Além disso, em 72 h, o valor de GSH/GSSG foi significativamente maior (85%; $P = 0,022$) no chá mate que no controle, com tamanho do efeito médio, $d = 0,68$ (Figura 18 e Apêndice H24).

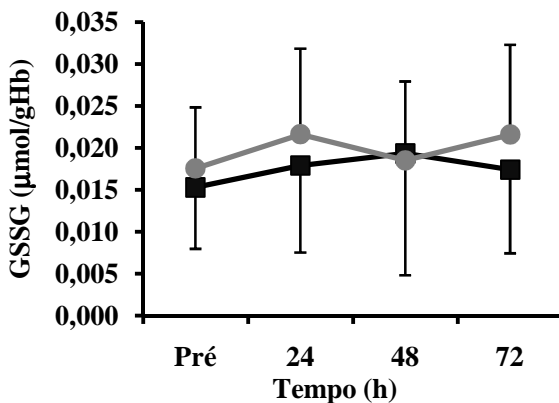


Figura 17 – Concentração de glutatona oxidada (GSSG) no sangue antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. N = 20.

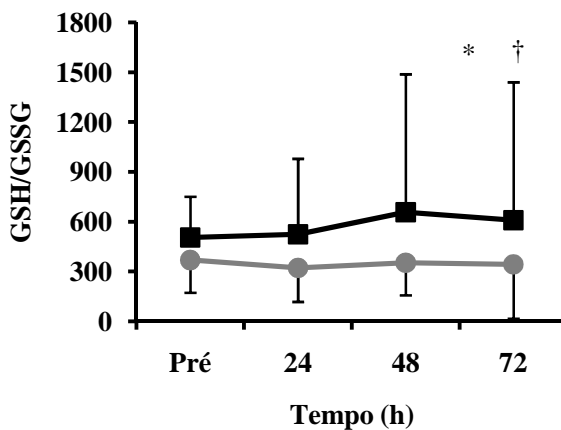


Figura 18 – Razão glutatona reduzida/glutatona oxidada (GSH/GSSG) no sangue antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. *Efeito do tratamento ($P = 0,027$). †Significativamente diferente entre os grupos ($P < 0,05$). Valores em média \pm DP. N = 20.

5.6.2 Concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma

A concentração plasmática de hidroperóxidos lipídicos antes do dano muscular foi semelhante entre o chá mate e o controle. Em ambos os grupos, a concentração de hidroperóxidos lipídicos não se alterou significativamente no período pós-dano e foi semelhante entre os grupos de 24 a 72 h (Figura 19 e Apêndice H27). Inicialmente, a concentração de hidroperóxidos lipídicos foi quantificada em amostras de plasma de 12 indivíduos (Apêndice B). Entretanto, em razão da ausência de diferenças significativas, decidimos por não prosseguir com esse ensaio nas amostras dos demais participantes.

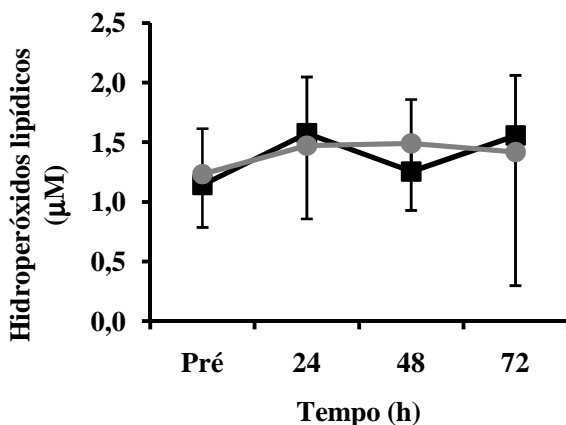


Figura 19 – Concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média ± DP. N = 12.

5.6.3 Concentração de carbonilas protéicas no plasma

A concentração plasmática de carbonilas protéicas antes do dano muscular foi similar entre os indivíduos dos grupos chá mate e controle ($2,69 \pm 0,86$ nmol/mg vs $2,36 \pm 0,98$ nmol/mg) (Figura 20 e Apêndice H30). Durante o período pós-dano, a concentração de carbonilas protéicas no plasma não se alterou significativamente, no grupo chá mate. Porém, no controle, os valores de carbonilas protéicas foram significativamente maiores ($P = 0,037$) após 72 h, comparado ao PRÉ (efeito do tempo $P = 0,041$). Os valores de carbonilas protéicas não diferiram significativamente entre os grupos em 24 h, 48 h e 72 h.

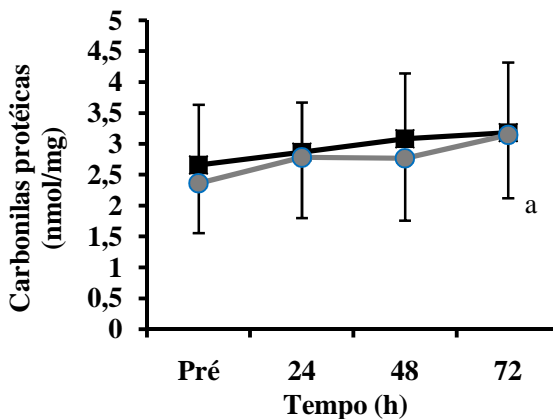


Figura 20 – Concentração de carbonilas protéicas no plasma antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tempo ($P = 0,041$). ^a $P < 0,05$, comparado ao PRÉ. Valores em média \pm DP. $N = 20$.

5.7 MARCADORES DA INFLAMAÇÃO

5.7.1 Número de leucócitos no sangue

O número de leucócitos totais, de granulócitos, de monócitos e de linfócitos no sangue antes do dano muscular não foi significativamente diferente entre chá mate e controle. Além disso, os valores de leucócitos totais, granulócitos, monócitos e linfócitos não se alteraram de forma significativa, em relação ao PRÉ, até 72 h e foram semelhantes entre os grupos (Figuras 21A-D e Apêndices H33, H35, H38 e H41).

5.7.2 Concentração de citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α no soro

A concentração sérica de IL-1 β antes do dano muscular foi semelhante entre os grupos chá mate e controle (Tabela 10). No chá mate, a concentração de IL-1 β não se alterou de forma significativa, em relação ao PRÉ, até 72 h pós-dano. Entretanto, no controle, a concentração de IL-1 β em 24 h foi 14% superior aos valores do PRÉ ($P < 0,05$) retornando a valores similares ao PRÉ em 48 e 72 h. A concentração de IL-1 β foi semelhante entre os grupos ao longo do período pós-dano.

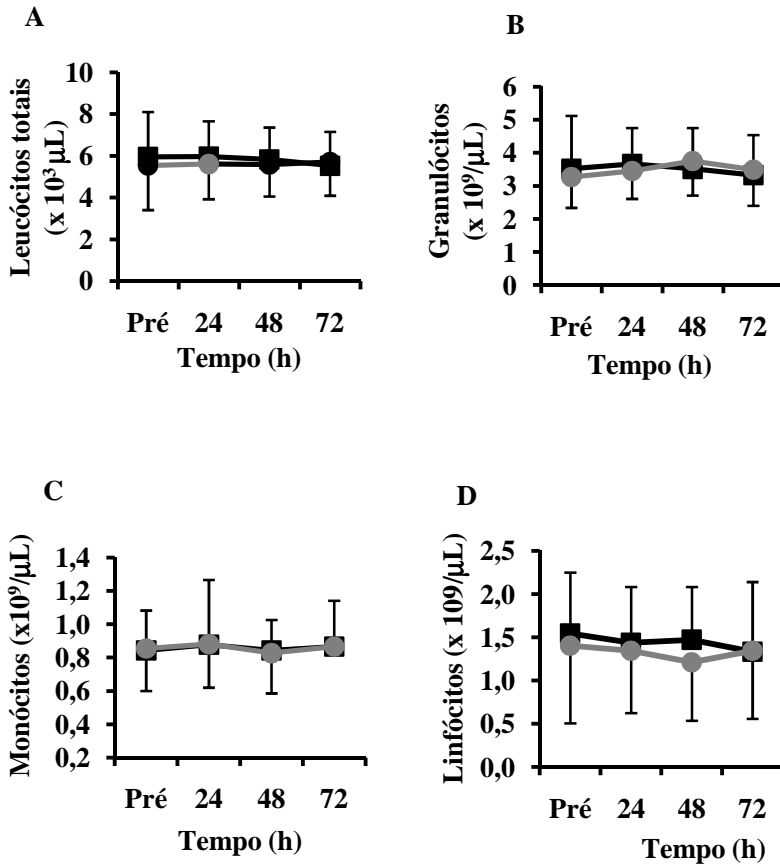


Figura 21 – Número de leucócitos totais (A), granulócitos (B), monócitos (C) e linfócitos (D) no sangue antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. N = 20.

Tabela 10 – Concentração de IL-1 β no soro antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	IL-1 β (pg/mL)		Valor-p ^a	TE
	Chá mate	Controle		
Pré	3,05 (2,50–4,53)	3,65 (2,75–4,40)	0,932	<-0,147
24 h	3,52 (2,30–6,00)	4,15 (3,35–5,76)*	0,766	-0,23
48 h	2,95 (2,08–5,38)	3,20 (2,77–3,80)†	0,799	<-0,147
72 h	2,85 (2,18–4,73)	3,40 (2,90–5,18)	0,369	-0,32

Pré, pré-exercício. IL, interleucina. Teste de Friedman e teste de Tukey. *P < 0,050, comparado ao Pré. ^aTeste de Wilcoxon. †P < 0,05 comparado a 24 h. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N =20.

A concentração de IL-6 soro antes do dano muscular foi $10,50 \pm 7,52$ pg/mL e $12,48 \pm 5,33$ pg/mL, no chá mate e no controle, respectivamente (Figura 22 e Apêndice H46). Até 72 h após o dano, os valores de IL-6 não diferiram significativamente do PRÉ, em ambos os grupos. A concentração de IL-6 no PRÉ tendeu (P = 0,067) a ser menor (~84%) no chá mate que no controle (tamanho do efeito médio, $d = -0,59$). Houve efeito do tratamento (P = 0,005), e a concentração de IL-6 foi menor no chá mate que no controle, em 24 h (~62%; P = 0,009; tamanho do efeito médio, $d = -0,66$), em 48 h (~66%; P = 0,028; tamanho do efeito médio, $d = -0,63$), e, em 72 h (~67%; P = 0,032; tamanho do efeito forte, $d = -0,86$).

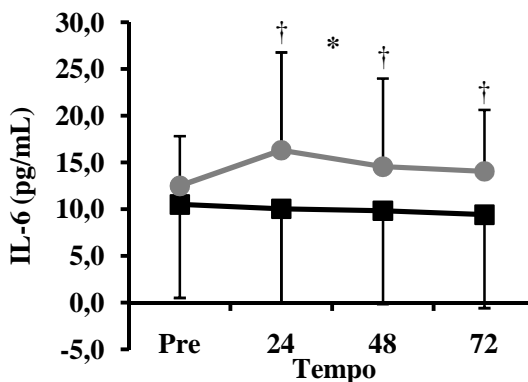


Figura 22 – Concentração de interleucina-6 (IL-6) antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. *Efeito do tratamento (P <0,050). †Significativamente diferente entre os grupos (P <0,050). Valores em média \pm DP. N= 20.

A concentração de TNF- α soro antes do dano muscular foi $12,50 \pm 8,42$ pg/mL e $17,80 \pm 10,61$ pg/mL, no chá mate e no controle, respectivamente. Em ambos os grupos, a concentração de TNF- α após o dano não diferiu significativamente do PRÉ (Figura 23 e Apêndice H49). Contudo, em 24 h, os valores de TNF- α mostraram discreto aumento, no controle, e reduziram levemente, no chá mate. Em 48 e 72 h, os valores de TNF- α , gradativamente, atenuaram, no controle, e elevaram, no chá mate. A concentração de TNF- α no PRÉ tendeu ($\sim 70\%$; $P = 0,069$) a ser menor no chá mate que no controle, e o tamanho do efeito foi grande ($d = -0,80$). Houve efeito do tratamento ($P = 0,013$), e a concentração de TNF- α em 24 h foi $\sim 50\%$ menor ($P = 0,002$), no chá mate que no controle (tamanho do efeito médio, $d = -0,62$). Em 48 h, os valores de TNF- α tenderam ($\sim 80\%$; $P = 0,094$) a ser menores no chá mate que no controle (tamanho do efeito médio, $d = -0,54$). Em 72 h, os valores de TNF- α não diferiram entre os grupos.

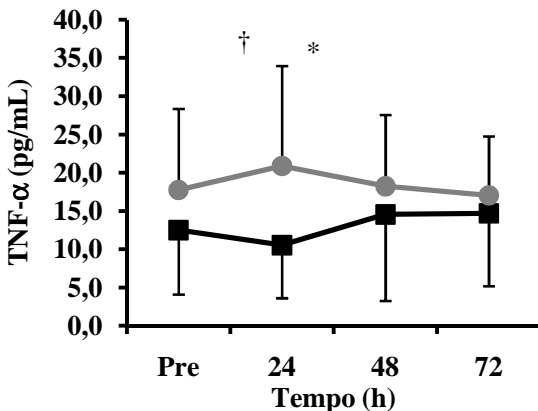


Figura 23 – Concentração de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. *Efeito do tratamento ($P < 0,050$). †Significativamente diferente entre os grupos ($P < 0,050$). Valores em média \pm DP. N= 20.

5.7.3 Concentração de PCR-as no soro

A concentração de PCR-as no soro antes do dano muscular foi semelhante entre os grupos (TE negligível) (Tabela 11). Após o dano, a concentração de PCR-as, no chá mate, diminuiu ao longo do tempo e foi significativamente menor que o PRÉ em 72 h. Além disso, em 48 h, a

concentração de PCR-as apresentou uma variação percentual em relação ao PRÉ significativa ($\sim 27\%$; $P < 0,050$; Apêndice H52). No controle, os valores da PCR-as elevaram após o dano, mas não diferiram significativamente do PRÉ. A concentração de PCR-as foi similar entre os grupos em 24 h e, em 48 h, tendeu ($P = 0,055$) a ser menor no chá mate que no controle, mas o TE foi pequeno (Tabela 11). Em 72 h, a concentração de PCR não diferiu entre os grupos .

Tabela 11 – Concentração de PCR no soro antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PCR (mg/L)		Valor-p ^a	TE
	Chá mate	Controle		
Pré	0,66 (0,33–1,11)	0,53 (0,22–1,70)	0,782	<0,147
24 h	0,58 (0,39–1,19)	0,68 (0,27–1,65)	0,517	<-0,147
48 h	0,52 (0,20–0,79)	0,73 (0,27–1,31)	0,055	-0,25
72 h	0,55 (0,17–1,26)*	0,66 (0,17–1,60)	0,847	<-0,147

Pré, pré-exercício. PCR, proteína C-reativa. Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. * $P < 0,050$, comparado ao Pré. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. $N = 20$.

5.7.4 Expressão de CD11b em membrana de neutrófilos

A expressão da proteína CD11b em neutrófilos foi determinada em amostras de 11 indivíduos. Infelizmente, os reagentes importados necessários para os ensaios não chegaram a tempo, para que as amostras frescas dos demais voluntários pudessem ser analisadas.

No pré-dano, a expressão de CD11b em neutrófilos foi similar entre o chá mate ($4310,81 \pm 441,40$ IMF) e o controle ($4358,77 \pm 374,54$ IMF). Em ambos os grupos, a expressão de CD11b não se alterou significativamente, em relação ao PRÉ, até 72 h pós-dano (Figura 24 e Apêndice H54). A expressão de CD11b não diferiu significativamente entre os grupos ao longo do período pós-dano.

5.7.5 Expressão da proteína p47^{phox} em neutrófilos

A expressão da proteína p47^{phox} em neutrófilos foi determinada em amostras de 15 indivíduos. Semelhante ao que ocorreu com os reagentes para a medida da proteína CD11b, infelizmente, os reagentes importados necessários para os ensaios não chegaram a tempo, para que as amostras frescas dos demais voluntários pudessem ser analisadas.

No pré-dano, a expressão da p47^{phox} em neutrófilos foi $\sim 19\%$ menor (efeito do tratamento $P = 0,047$) no chá mate, comparado ao chá

mate ($49,36 \pm 20,90$ IMF vs $61,06 \pm 15,70$ IMF) e o tamanho do efeito foi médio ($d = -0,70$) (Figura 25 e e Apêndice H57). Em ambos os grupos, a expressão da $p47^{\text{phox}}$ mostrou discreta elevação em 24 e 72 h. Apesar disso, independentemente do grupo, os valores da $p47^{\text{phox}}$ não diferiram, em relação ao PRÉ, durante o pós-dano. A expressão da $p47^{\text{phox}}$ não foi diferente entre os grupos em 24 h, 48 h e 72 h.

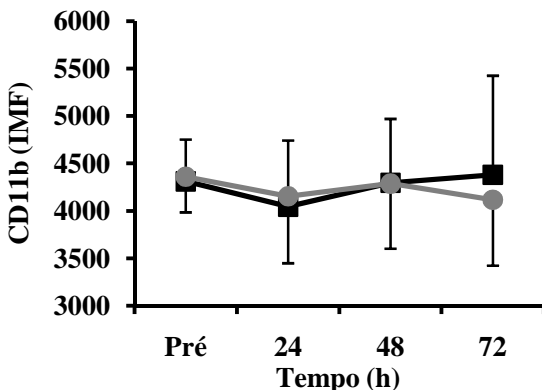


Figura 24 – Expressão da proteína CD11b em neutrófilos (IMF, intensidade média de fluorescência - unidades arbitrárias) antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. N = 11.

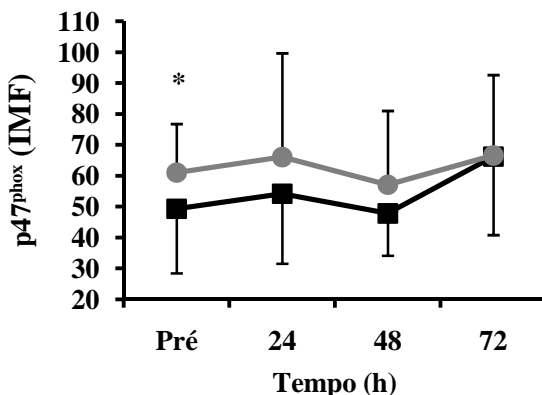


Figura 25 – Expressão da proteína $p47^{\text{phox}}$ em neutrófilos (IMF, intensidade média de fluorescência - unidades arbitrárias) antes e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate (■) e controle (●). *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. *Significativamente diferente entre os grupos ($P < 0,050$). Valores em média \pm DP. N= 15.

5.8 CORRELAÇÕES

As correlações significativas observadas entre o pico de torque isométrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle, são apresentadas nos Quadro 3.

Quadro 3 - Correlações significativas observadas entre o pico de torque isométrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle. (continua)

PTiso	Grupo	Marcador bioquímico/período	r	Valor-p
0 h	Controle	¹ GSH/24 h	-0,54 ^a	0,022
		² p47 ^{phox} /24 h	-0,55 ^a	0,040
24 h	Chá mate	¹ GSH/24 h	-0,50 ^a	0,035
48 h	Controle	¹ Granulócitos/72 h	-0,60 ^a	0,005
		¹ Linfócitos/48 h	-0,61 ^a	0,007
PRÉ-0h	Chá mate	³ Creatina quinase/PRÉ-72h	-0,47 ^b	0,047
		³ Creatina quinase /48-72 h	-0,56 ^b	0,015
		³ Aldolase /PRÉ-48 h	-0,47 ^b	0,048
	Controle	³ Creatina quinase / PRÉ-72 h	-0,47 ^b	0,049
³ TNF- α / PRÉ-24 h		-0,54 ^b	0,002	
PRÉ-24 h	Chá mate	⁴ Hidroperóxidos lipídicos/PRÉ-72 h	0,80 ^b	0,002
		³ PCR/PRÉ- 24 h	-0,57 ^b	0,014
		⁴ Carbonilas protéicas/24-48 h	0,52 ^b	0,034
	Controle	² CD11b / PRÉ-48 h	-0,65 ^b	0,029
PRÉ-72 h	Chá mate	⁴ Hidroperóxidos lipídicos/PRÉ-72 h	0,76 ^b	0,005
0-24 h	CM	⁴ Fenóis totais/PRÉ-24 h	-0,53 ^b	0,024
	Controle	¹ GSH/24-48 h	-0,78 ^b	<0,001
		¹ Leucócitos totais/24-48 h	-0,58 ^b	0,013
		³ TNF- α / PRÉ-24 h	-0,53 ^b	0,024
24-48 h	Chá mate	² p47 ^{phox} /PRÉ-48 h	0,60 ^b	0,002
	Controle	¹ Monócitos/PRÉ-48 h	-0,65 ^b	0,009

Quadro 3 - Correlações significativas observadas entre o pico de torque isométrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle. (conclusão)

PTiso	Grupo	Marcador bioquímico/período	r	Valor-p
48-72 h	Chá mate	⁴ Hidroperóxidos lipídicos/24-48 h	0,77 ^b	0,004
		¹ Leucócitos totais/PRÉ-48 h	0,56 ^b	0,015
		¹ Leucócitos totais/24-48 h	-0,65 ^b	0,004
		¹ Granulócitos/24-48 h	-0,60 ^b	0,009
		¹ Linfócitos/24-48 h	-0,51 ^b	0,031

^aCorrelação de Pearson; ^bCorrelação de Spearman. PT_{iso}, pico de torque isométrico. PRÉ, pré-dano. ¹Sangue; ²neutrófilos; ³soro; ⁴plasma. GSH, glutationa reduzida.

As correlações significativas observadas entre o pico de torque concêntrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle, são apresentadas nos Quadro 4.

Quadro 4 - Correlações significativas observadas entre o pico de torque concêntrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle. (continua)

PTconc	Grupo	Marcador bioquímico/período	r	Valor-p
0 h	Controle	¹ GSH/24 h	-0,57 ^a	0,003
		² p47 ^{phox} /24 h	-0,59 ^a	0,026
24 h	Chá mate	¹ GSH/24 h	-0,71 ^a	0,001
	Controle	¹ GSH/24 h	-0,51 ^a	0,037
48 h	Controle	¹ Granulócitos/72 h	-0,53 ^b	0,024
		¹ Linfócitos/48 h	-0,58 ^b	0,013
PRÉ-0h	Controle	² CD11b / PRÉ-72 h	-0,64 ^b	0,032
PRÉ-24 h	Controle	³ Aldolase /PRÉ-24 h	-0,54 ^b	0,019
		⁴ Hidroperóxidos lipídicos/PRÉ-24 h	0,77 ^b	0,004
PRÉ-48 h	Chá mate	¹ Granulócitos/PRÉ-48 h	-0,50 ^b	0,032

Quadro 4 - Correlações significativas observadas entre o pico de torque concêntrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle. (conclusão)

PTconc	Grupo	Marcador bioquímico/período	r	Valor-p
PRÉ-72 h	Controle	⁴ Carbonilas protéicas/PRÉ-72 h	0,50 ^b	0,042
		⁴ Carbonilas protéicas/48-72 h	0,52 ^b	0,032
0-24 h	Chá mate	⁴ Carbonilas protéicas/PRÉ-48 h	0,82 ^b	<0,001
		¹ Linfócitos/PRÉ-72 h	0,54 ^b	0,021
	Controle	³ Aldolase /PRÉ-24 h	-0,54 ^b	0,019
48-72 h	Chá mate	³ Creatina quinase/48-72 h	-0,57 ^b	0,013
		¹ Monócitos/PRÉ-48 h	-0,48 ^b	0,041
	Controle	³ Creatina quinase/PRÉ-48 h	-0,62	0,006
		¹ Monócitos/PRÉ-72 h	0,58 ^b	0,012

^aCorrelação de Pearson; ^bCorrelação de Spearman. PT_{conc}, pico de torque concêntrico. PRÉ, pré-dano. ¹Sangue; ²neutrófilos; ³soro; ⁴plasma. GSH, glutationa reduzida.

As correlações significativas observadas entre o pico de torque excêntrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle, são apresentadas nos Quadro 5.

Quadro 5 - Correlações significativas observadas entre o pico de torque excêntrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle. (continua)

PTexc	Grupo	Marcador bioquímico/período	r	Valor-p
0 h	Chá mate	¹ GSH/24 h	-0,55 ^a	0,019
		¹ GSH/48 h	-0,50 ^a	0,033
		¹ GSH/72 h	-0,76 ^a	<0,001
	Controle	² p47 ^{phox} /24 h	-0,66 ^a	0,011
24 h	Controle	² p47 ^{phox} /24 h	-0,65 ^a	0,011
		⁴ Hidroperóxidos lipídicos/48h	0,72 ^a	0,013
48 h	Controle	² p47 ^{phox} /24 h	-0,70 ^a	0,005

Quadro 5 - Correlações significativas observadas entre o pico de torque excêntrico e os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle. (conclusão)

PTexc	Grupo	Marcador bioquímico/período	r	Valor-p
PRÉ-0h	Chá mate	² CD11b / 48-72 h	-0,68 ^b	0,019
	Controle	³ Aldolase /PRÉ-24 h	-0,64 ^b	0,005
PRÉ-24 h	Controle	² CD11b / PRÉ-24 h	-0,67 ^b	0,021
		³ PCR /PRÉ-24 h	-0,53 ^b	0,022
PRÉ-48 h	Chá mate	¹ Leucócitos/24-48 h	0,61 ^b	0,006
PRÉ-72 h	Controle	¹ Leucócitos/24-48 h	0,49 ^b	0,037
		¹ Linfócitos/PRÉ-72 h	0,50 ^b	0,033
0-24 h	Controle	¹ GSH/PRÉ-72 h	-0,53 ^a	0,024
48-72 h	Chá mate	¹ GSH/GSSG /48-72 h	-0,73 ^b	<0,001
	Controle	³ Creatina quinase/48-72 h	-0,47 ^b	0,049

^aCorrelação de Pearson; ^bCorrelação de Spearman. PT_{conc}, pico de torque excêntrico. PRÉ, pré-dano. ¹Sangue; ²neutrófilos; ³soro; ⁴plasma. GSH, glutationa reduzida. GSSG, glutationa oxidada.

No Quadro 6, são apresentadas as correlações significativas observadas entre os marcadores bioquímicos estudados.

Quadro 6 - Correlações significativas observadas entre os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle. (continua)

Marcador bioquímico/período	Grupo	Marcador bioquímico/período	r	Valor-p
¹ Creatina quinase/PRÉ-72 h	Chá mate	¹ PCR /PRÉ-24 h	0,50 ^b	0,047
	Controle	¹ PCR /PRÉ-24 h	0,57 ^b	0,013
¹ Aldolase/24 h	Controle	² Hidroperóxidos lipídicos/24h	0,65 ^b	0,026
¹ Aldolase/48 h	Controle	² Hidroperóxidos lipídicos/72h	-0,61 ^b	-0,043
¹ Aldolase/72 h	Controle	¹ PCR /72 h	0,53 ^b	0,022

Quadro 6 - Correlações significativas observadas entre os marcadores bioquímicos após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle. (conclusão)

Marcador bioquímico/período	Grupo	Marcador bioquímico/período	r	Valor-p
¹ Aldolase/ PRÉ-24 h	Chá mate	¹ PCR /48-72 h	0,50 ^b	0,047
	Controle	³ Granulócitos/ PRÉ-24 h	- 0,59 ^b	0,006
² Fenóis totais/PRÉ	Chá mate	⁴ CD11b/PRÉ	- 0,64 ^a	0,033
		⁴ CD11b/24 h	- 0,63 ^a	0,038
² Fenóis totais/24 h	Chá mate	⁴ CD11b/24 h	- 0,64 ^a	0,034
² Fenóis totais/24-48 h	Controle	⁴ CD11b/24 h	- 0,68 ^b	0,019
² Hidroperóxidos lipídicos/ PRÉ-24 h	Controle	³ GSH/GSSG / PRÉ-24 h	- 0,75 ^b	0,026
² Hidroperóxidos lipídicos/ PRÉ-48 h	Controle	³ GSH/GSSG /PRÉ-72 h	- 0,73 ^b	0,001
² Hidroperóxidos lipídicos/ 24-48 h	Chá mate	³ GSH/GSSG /24-48 h	- 0,75 ^b	0,007

^aCorrelação de Pearson; ^bCorrelação de Spearman. PT_{conc}, pico de torque concêntrico. PRÉ, pré-dano. ¹Soro; ²plasma; ³sangue. ⁴neutrófilos. GSH, glutatona reduzida. GSSG, glutatona oxidada.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou o efeito do consumo de chá mate — bebida rica em compostos antioxidantes, tais como fenólicos e saponinas —, na função muscular, na resposta inflamatória, na defesa antioxidante e no estresse oxidativo, utilizando medidas de força muscular e da concentração de marcadores bioquímicos circulantes em indivíduos saudáveis, antes e ao longo de 72 h após o dano muscular.

Os resultados obtidos sugeriram que a intervenção com 600 mL de chá mate (5 mg de mate solúvel liofilizado por mililitro) por dia, durante sete dias antes e quatro dias após o dano muscular excêntrico, promoveu vários efeitos protetores dos seus compostos bioativos já verificados em outras pesquisas, em animais (LANZETTI et al., 2008; BORGES et al., 2013) ou em seres humanos (BOAVENTURA et al., 2012), ou que ainda não foram relatados na literatura. Por exemplo: o chá mate afetou positivamente marcadores do dano muscular, em especial a função muscular e a concentração sérica da enzima aldolase, após o dano; melhorou o perfil de marcadores da inflamação no sangue, IL-1 β , IL-6, TNF- α e PCR, antes e/ou após o dano. Além disso, o chá mate reduziu a expressão de repouso da subunidade da enzima NADPH oxidase, p47^{phox}, na membrana de neutrófilos. O estado redox sanguíneo, também, foi favoravelmente influenciado pelo chá mate, antes e após o dano muscular.

6.1 EFEITOS DO CHÁ MATE EM MARCADORES DO DANO MUSCULAR

6.1.1 Força muscular

A função muscular medida por meio da capacidade de produção de força representa um dos mais confiáveis e válidos marcadores da magnitude do dano muscular após o exercício (WARREN, LOWE; ARMSTRONG, 1999; PAULSEN et al., 2012; 2013). Logo, no presente estudo, o principal benefício do consumo de chá mate no dano muscular induzido pelo exercício excêntrico consistiu na melhora da recuperação na força muscular após o dano. As taxas de recuperação nas forças isométrica e concêntrica foram consideravelmente influenciadas pelo consumo de chá mate ao longo de 24 h pós-dano (i.e., variação entre os tempos 0 e 24 h) conforme mostrado pelos tamanhos dos efeitos grandes ($d = 1,26$ e $d = 1,00$) nos picos de torque isométrico e no torque concêntrico, respectivamente. Como resultado desses avanços, ao final do primeiro dia após o dano muscular excêntrico, os déficits nas forças

estavam significativamente menores em 24 h nos indivíduos que ingeriram o chá mate, comparados aos indivíduos do grupo controle, que ingeriram água (Figura 12B e 13B). Os benefícios da suplementação com certos alimentos ou bebidas ricos em compostos fitoquímicos no restabelecimento da força muscular após o dano muscular excêntrico foram anteriormente demonstrados em indivíduos não treinados em exercícios contrarresistência (CONNOLLY et al., 2006; TROMBOLD et al., 2010; McLEAY et al., 2012). Todavia, nesse contexto, os efeitos do consumo de bebidas à base de erva mate não haviam sido ainda investigados. Os nossos resultados, portanto, parecem corroborar o potencial de alimentos ricos em compostos fitoquímicos para favorecer a recuperação da função muscular após o dano muscular excêntrico (CONNOLLY et al., 2006; TROMBOLD et al., 2010; 2011; McLEAY et al., 2012; MACHIN et al., 2014).

Não obstante, o padrão de recuperação da força muscular ao longo do tempo, após o dano muscular excêntrico, não é totalmente concordante entre os estudos. Por exemplo, de forma similar ao ocorrido na presente pesquisa, Connolly et al. (2006) relataram que o pico de torque isométrico dos músculos flexores do cotovelo foi maior com a suplementação de suco de cereja (rico em antocianinas), comparada ao placebo, em 24 h após o dano muscular. Entretanto, diferentemente do verificado com o chá mate, o consumo de suco de cereja melhorou a força, também, em 48, 72 e 96 h. Por outro lado, Trombold et al. (2010) relataram que a ingestão de suco de romã (rico em elagitaninos) não influenciou o pico de torque isométrico dos músculos flexores do cotovelo em 24 h depois do dano, porém, a força foi maior que o placebo em 48 e 72 h e semelhante em 96 h. Contrariamente, no estudo de Goldfarb et al. (2011), a suplementação com concentrado de vegetais e frutas vermelhas (ricas em antocianinas) não afetou o déficit significativo no pico de torque isométrico dos músculos flexores do cotovelo ao longo de 72 h após o dano muscular excêntrico.

As diferenças de resultados relatadas nesses estudos foram, possivelmente, relacionadas a uma série de fatores, incluindo o protocolo do exercício excêntrico, o grupo muscular avaliado e as propriedades biológicas intrínsecas dos compostos fitoquímicos e/ou da sua matriz alimentar (para revisão: PANZA et al., 2015). Além disto, a ausência ou atenuação de efeito da suplementação na recuperação da força muscular, especialmente além de 24 h pós-dano, poderia, em parte, estar relacionada à magnitude ou exacerbação do dano muscular. Newham et al. (1983) relataram maior grau de dano muscular (músculo quadríceps) e maior número de fibras avariadas entre 24 e 48 h após o

exercício excêntrico (teste de 20 min em *step*), em comparação ao tempo imediatamente pós-esforço. De acordo com Paulsen et al. (2012), após a recuperação inicial nas primeiras horas após o dano muscular excêntrico, o restabelecimento na força muscular pode permanecer suspenso por alguns ou vários dias dependendo da extensão do dano.

No presente estudo, por exemplo, 72 h após o dano, os valores dos picos de torques isométrico, concêntrico e excêntrico permaneceram ainda significativamente abaixo do momento pré-dano, indicando, assim, recuperação muscular incompleta (TROMBOLD et al., 2010), independente do tratamento com chá mate. Além disso, os déficits $\geq 23\%$ imediatamente pós-dano, nas forças isométrica, concêntrica e excêntrica, indicaram que o dano muscular induzido pelo protocolo de exercício excêntrico empregado foi de magnitude "moderada" (PAULSEN et al., 2012). De modo semelhante aos nossos resultados, no estudo de Goldfarb et al. (2011), o déficit na força isométrica se manteve em 30-40% durante 72 h pós-dano, independente da suplementação. Por outro lado, Connolly et al. (2006) e Trombold et al. (2010) relataram que os déficits na força isométrica em 72 h pós-dano, no grupo placebo, foram de aproximadamente 16%, o que, portanto, sugere que a extensão do dano muscular (PAULSEN et al., 2012) foi menor, em comparação ao presente estudo, bem como ao estudo de Goldfarb et al. (2011). Portanto, é possível que os efeitos positivos da suplementação com o chá mate na função muscular, além de 24 h após o dano muscular excêntrico, tenham sido sobrepujados pela magnitude dos prejuízos musculares estruturais, relacionados aos danos iniciais e/ou secundários induzidos pelo protocolo de exercício empregado (ARMSTRONG; WARREN; WARREN, 1991; FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993). Isto estaria de acordo com a necessidade de um prolongado processo de regeneração estrutural, para a completa recuperação funcional do músculo (PAULSEN et al., 2012; 2013).

Importa salientar que Paulsen et al. (2012) recomendam que a função muscular seja preferencialmente avaliada por meio de ações musculares concêntricas. Os autores advertem para o fato de que mudanças no ângulo de pico de torque, resultantes do dano muscular induzido pelo exercício, podem levar à super ou subestimativa nas alterações no pico de torque isométrico, quando a avaliação é feita em apenas um ângulo articular. No presente estudo, o torque isométrico foi medido somente em um ângulo de flexão do cotovelo (90°), o que poderia, assim, suscitar dúvidas sobre a efetividade do chá mate na recuperação do pico de torque isométrico. Não obstante, nos indivíduos

do grupo chá mate, os benefícios da suplementação na restauração no torque isométrico, durante o primeiro dia pós-esforço, foram acompanhados de melhor recuperação, também, no torque concêntrico, no mesmo período, corroborando a efetividade do tratamento.

Infelizmente, os resultados sobre as medidas de forças dinâmicas têm sido raramente mencionados em estudos com suplementação de alimentos e bebidas ricos em compostos fitoquímicos. McLeay et al. (2012) relataram déficits significativos nos picos de torque concêntrico e excêntrico em 12, 36 e 60 h após 300 ações musculares excêntricas com os músculos extensores do joelho, em mulheres suplementadas com 200 g de bebida à base de *blueberry*, ou placebo, em 10 e 5 h antes e 0, 12 e 36 h pós-exercício. Segundo os autores, não houve efeito significativo do tratamento. Nossos resultados discordam das observações de McLeay et al. (2012), visto que o consumo de chá mate acelerou significativamente a recuperação no pico de torque concêntrico no primeiro dia após o dano. Além disto, vale ressaltar que, nos indivíduos do grupo controle, o déficit no torque concêntrico tendeu ($P = 0,067$) a ser menor em 24 h, comparado a 0 h (Figura 13B e Apêndice H6), sugerindo um comprometimento adicional no processo de geração de força muscular concêntrica, que foi prevenido com o consumo de chá mate. Com relação à força muscular excêntrica, os valores absolutos e relativos do pico de torque excêntrico foram pouco influenciados pela suplementação com chá mate (Figuras 14A e 14B). Entretanto, o consumo de chá mate teve o tamanho do efeito médio ($d = 0,68$) na taxa de recuperação no torque excêntrico, entre o segundo e terceiro dia pós-dano (Apêndice H10). Essa melhoria resultou em déficit no pico de torque excêntrico significativamente menor em 72 h, em relação à imediatamente após o dano (0 h), o que não ocorreu no grupo controle. Portanto, com base em nossos achados, sugere-se que, após o dano muscular excêntrico, a recuperação das forças musculares dinâmicas pode também ser favorecida com suplementação de alimentos ou bebidas ricos em compostos fitoquímicos.

6.1.2 Creatina quinase sérica

O consumo de chá mate não alterou a resposta sérica da creatina quinase ao protocolo de exercício excêntrico empregado neste estudo. A atividade catalítica da enzima se elevou gradualmente ao longo do pós-dano, alcançando valores significativos em 72 h, independente do tratamento com chá mate (Tabela 9). A medida da atividade da creatina quinase tem sido o marcador bioquímico mais frequentemente utilizado para estimar o dano muscular esquelético induzido pelo exercício

(SORICHTER et al., 1997; BRANCACCIO et al., 2008; PAULSEN et al., 2012). Aumentos significativos na atividade de creatina quinase circulante são comumente observados após o dano muscular excêntrico, com valores máximos da enzima ocorrendo entre 24-96 h, ou mais (JONES et al., 1986; NOSAKA; CLARKSON, 1996; QUINDRY et al., 2004; THEODOROU et al., 2011). No presente estudo, a resposta da creatina quinase foi semelhante àquela relatada por Ebbelin e Clarkson (1990), na qual a atividade sérica da enzima se tornou significativamente elevada somente 72 h após uma série de exercício excêntrico (70 ações musculares excêntricas com os músculos flexores do cotovelo).

A CK-MM é a isoforma predominante da creatina quinase no músculo esquelético e encontra-se, especificamente, na linha M do sarcômero, principalmente, no espaço intermiofibrilar, e, em menor proporção, ligada à miosina (SHERWIN; KARPATI; BULCKE, 1969; YAGI; MASE, 1962; WALLIMANN; TURNER; EPPENBERGER, 1977). Paulsen et al. (2012) concluíram que, apesar de alguns relatos de fraca correlação entre a atividade da creatina quinase e outros marcadores do dano muscular, respostas muito elevadas na atividade sérica da enzima ao exercício parecem acompanhar graves reduções na capacidade de produção de força muscular (i.e. >50%) e evidência de dano muscular severo. No estudo de Paulsen et al. (2010), por exemplo, os autores observaram que os indivíduos que tiveram maior redução no pico de torque concêntrico nos músculos extensores do joelho, após 300 ações musculares excêntricas máximas, mostraram também maior concentração sérica da creatina quinase, a qual apresentou padrão bifásico (~24 e 96 h), e maior acúmulo de leucócitos no músculo. Foi proposto que o pico inicial na creatina quinase teria resultado de aumento na permeabilidade da membrana, causado pelo exercício *per se* e/ou pelo acúmulo de leucócitos, ao passo que o segundo pico estaria, provavelmente, relacionado à necrose da fibra. Em estudo anterior, com o mesmo protocolo de exercício, Paulsen et al. (2005) relataram que o aumento máximo na atividade da creatina quinase no soro em 96 h após o dano muscular foi associado ($r = 0,65$; $P < 0,050$) à magnitude da redução imediata na capacidade de produção de força muscular (pico de torque concêntrico) após o dano.

No presente estudo, apesar da intensidade do dano muscular ter sido de nível moderado (PAULSEN et al. 2012), o incremento na atividade da creatina quinase no período PRÉ-72 h pós-dano pode ter sido proporcional ao déficit imediato (i.e., período PRÉ-0 h pós-dano) na força isométrica, conforme sugerido pelas associações entre essas

variáveis observadas tanto nos indivíduos do grupo chá mate ($r = -0,47$; $P = 0,047$), quanto naqueles do grupo controle ($r = -0,47$; $P = 0,049$) (Quadro 3). Esses resultados estão em conformidade com os achados de Paulsen et al. (2005). Além disso, a influência do déficit imediato na força muscular na resposta sérica da creatina quinase pode ter sido relevante entre o segundo e terceiro dia após o exercício, visto que, no período 48-72 h, a variação na atividade da creatina quinase foi associada à recuperação tanto da força isométrica, no grupo chá mate, como da força excêntrica, no grupo controle ($r = -0,56$; $P = 0,015$ e $r = -0,49$; $P = 0,040$, respectivamente) (Quadros 3 e 5). Portanto, juntos, esses resultados sugerem que a magnitude do dano inicial induzido pelo exercício excêntrico — o qual representa parte do déficit imediato na função muscular (FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993) — refletiu-se na resposta da sérica da creatina quinase principalmente entre o segundo e terceiro dias pós-dano. A maior atividade sérica da enzima em 72 h, provavelmente, foi relacionada ao aumento na taxa de proteólise e/ou à necrose da fibra muscular, a partir do segundo dia pós-dano (JONES et al., 1986; LOWE et al., 1995; INGALLS; WARREN; ARMSTRONG, 1998; PAULSEN et al., 2010).

Em conjunto, nossos achados parecem concordar com a utilidade da medida da atividade sérica da creatina quinase, como marcador do dano muscular (BRACACCIO et al., 2008; PAULSEN et al., 2012). Não obstante, considera-se que a liberação muscular de proteínas citosólicas para a circulação, após o exercício, pode não refletir claramente a magnitude do dano no aparato contrátil muscular (VAN DER MEULEN et al., 1991; SORICHTER et al., 1997; FIDÉN; LIEBER, 2001). Há evidências de que a atividade sérica da creatina quinase nem sempre é bom preditor da função muscular após o dano muscular excêntrico (FIDÉN; LIEBER, 2001). Neste sentido, é interessante destacar que em trabalhos anteriores (TROMBOLD et al., 2010; McLEAY et al., 2012), o aumento significativo na concentração sérica de proteínas citosólicas, incluindo a creatina quinase, ocorreu independentemente da concomitante melhora, promovida pela suplementação com alimentos ricos em fitoquímicos, na força muscular. Assim, não está claro ainda se o aumento tardio da atividade da creatina quinase no soro associado ao dano muscular excêntrico pode ser atenuado com a suplementação de alimentos ricos em fitoquímicos (TROMBOLD, et al., 2010; GOLDFARB et al., 2011; McLEAY et al. 2012), apesar das evidências de que a resposta imediata da creatina quinase ao exercício pode ser atenuada com a ingestão de bebidas ricas em compostos fenólicos (PANZA et al., 2008).

Divergências como essas se devem, provavelmente, às diversas limitações inerentes à utilização da concentração/atividade de proteínas citosólicas na circulação como indicadores do dano muscular relacionado ao exercício (WAREN, LOWE; ARMSTRONG, 1999). Dentre essas limitações, destaca-se particularmente a grande variabilidade interindividual na atividade da creatina quinase no soro/plasma (NEWHAM et al., 1983; NOSAKA; CLARKSON, 1996; SORICHTER et al., 1997). Com efeito, em nosso estudo, os coeficientes de variação (CVs) da creatina quinase foram elevados em ambos os grupos (55,2–113,8% e 157,4–226,3%, no chá mate e controle, respectivamente), principalmente no grupo controle. Embora a extensão do dano muscular pareça ser um importante determinante da grande variabilidade na resposta da creatina quinase após o exercício excêntrico (NOSAKA; CLARCKSON, 1996), outros fatores podem estar associados, como, por exemplo, a concentração circulante de GSH (GUNST et al., 1998).

6.1.2 Aldolase sérica

O consumo de chá mate afetou positivamente a atividade da aldolase no soro antes e após o dano muscular excêntrico. No momento pré-dano, a atividade da enzima foi significativamente menor ($P < 0,001$) nos indivíduos do grupo chá mate, comparado ao controle, e o tamanho desse efeito foi forte ($\delta = -0,57$). Além disto, a eficiência do chá mate em prevenir o aumento na atividade da aldolase em 24 h após o dano foi significativa ($P < 0,001$) e o tamanho desse efeito foi forte ($\delta = -0,71$). Após o primeiro dia de recuperação, a eficácia do chá mate na atividade da aldolase foi atenuada, contudo, o tamanho do efeito da suplementação permaneceu médio ($\delta = -0,39$ e $\delta = -0,36$, em 48 e 72 h, respectivamente). Vale ressaltar que o chá mate não impediu mudança significativa na atividade sérica da aldolase após o dano, porém, parece ter postergado essa resposta de 24 h para 48 h pós-esforço (Tabela 9 e Apêndice H13). Em conjunto, esses resultados indicam que o consumo de chá mate influenciou a magnitude e o decurso da resposta da aldolase associada ao dano muscular excêntrico.

Estas são as primeiras evidências de que a ingestão regular de chá mate pode diminuir a atividade sérica de proteína citosólica, em repouso e sob a condição de dano muscular excêntrico, o que concorda parcialmente com os achados de Oliveira et al. (2014). Nesse estudo, o consumo de chá mate (5 g em 400 mL por dia), 1 h antes de um teste incremental em esteira até a exaustão, preveniu o aumento na

concentração da AST e diminuiu o Δ ALT na circulação após o exercício, em atletas de futebol. Os relatos quanto ao potencial da erva mate em modular as respostas ao exercício de marcadores sanguíneos do dano muscular são ainda escassos. Não obstante, os benefícios observados neste estudo, bem como no de De Oliveira et al. (2014), estão de acordo com outras pesquisas que suplementaram bebidas/extratos ricos em fitoquímicos em associação ao exercício (PANZA et al., 2008; FUNES et al., 2011). Por exemplo, o consumo de chá verde (2 g de folhas em 200 mL, 3x/dia, por sete dias) atenuou o aumento na atividade sérica da AST em 1 e 15 min após um protocolo de exercício contrarresistência. Os valores da enzima no pré-exercício foram também diminuídos com a suplementação (PANZA et al., 2008).

Em seres humanos, a aldolase é expressa em três isoformas, A, B e C, que ocorrem predominantemente no músculo esquelético, no fígado e no cérebro, respectivamente (LEBHERZ; RUTTER, 1969; ASAKA; ALPERT, 1983). Infelizmente, o método empregado para a determinação da aldolase neste estudo, não possibilitou a identificação de isoformas da enzima nas amostras analisadas. Contudo, ressalta-se que o músculo parece ser a principal fonte contribuinte na resposta sérica da aldolase ao exercício (NOAKES, 1987), o que, portanto, sugere que os benefícios do chá mate, após o exercício excêntrico, ocorreram principalmente nos músculos que sofreram o dano. Além disso, o consumo de chá mate diminuiu a atividade sérica da aldolase independentemente do dano muscular (i.e. no momento PRÉ), o que não descarta a ideia de que membranas de outros tipos celulares, além da fibra muscular, possam ter sido beneficiadas com o consumo de chá mate.

No músculo esquelético, a aldolase é encontrada na banda-I do sarcômero, onde está, em considerável proporção, fortemente ligada a filamentos que contém actina (i.e. filamentos de actina F—tropomiosina—troponina) (ARNOLD; PETTE CLARKE, 1968; MASTERS, 1975; WALSH et al., 1980). A existência na aldolase de vários sítios de ligação reversível para proteínas estruturais permite a formação de ligações cruzadas entre os filamentos contendo actina, levando à formação de feixes altamente ordenados na ultraestrutura sarcomérica (STEWART; MORTON; CLARKE et al., 1980). Apesar da estreita relação da aldolase com proteínas miofibrilares, atualmente, a atividade sérica dessa enzima não é amplamente utilizada como marcador do dano muscular induzido pelo exercício (BRANCACCIO et al. 2010), sobretudo quando comparada à creatina quinase. Entretanto, Kanda et al. (2014) propuseram que atividade sérica da aldolase, e não

somente a da creatina quinase, pode representar um indicador do dano muscular induzido pelo exercício mais confiável do que outras enzimas citosólicas comumente estudadas. Os autores observaram que a atividade da aldolase no soro foi fortemente associada ($r = 0,78$; $P < 0,050$) com a sensibilidade muscular — um indicador de dano muscular — 72 h pós-exercício excêntrico (10 séries de 40 repetições com os músculos extensores do tornozelo), quando a atividade da aldolase havia se tornado significativamente maior que no pré-esforço.

Concordando com as observações de Kanda et al. (2014), nossos resultados sugeriram que mudanças na atividade sérica da aldolase podem refletir, ao menos em parte, alterações na função muscular após o dano muscular excêntrico. Neste sentido, destaca-se que, em ambos os grupos, associações inversas moderadas ocorreram entre a recuperação da força muscular e a variação na atividade sérica da aldolase em períodos no pós-dano nos quais a resposta da enzima foi significativa, isto é, período PRÉ-48 h, nos indivíduos do grupo chá mate, e PRÉ-24 h, nos indivíduos do grupo controle (Tabela 9 e Quadros 3-5). Por exemplo, no grupo chá mate, o déficit imediato na força isométrica foi associado com a variação na atividade sérica da aldolase entre PRÉ-48 h ($r = -0,47$; $P = 0,048$). No grupo controle, associação foi observada entre o déficit imediato na força excêntrica e a variação na atividade sérica da aldolase entre PRÉ-24 h ($r = -0,64$; $P = 0,005$).

É interessante notar que, nos indivíduos do grupo controle, a variação na atividade sérica da aldolase no período PRÉ-24 h foi moderadamente associada com a recuperação na força concêntrica nos períodos PRÉ-24 h ($r = -0,54$; $P = 0,019$) e 0-24 h ($r = -0,56$; $P = 0,016$) pós-dano. Vale lembrar que, nesses indivíduos, o pico de torque concêntrico entre 0-24 h pós-dano teve uma nova queda de, aproximadamente, 10% (Figura 13B e Apêndice H7). Juntos, esses resultados reforçam a ideia de que a resposta sérica da aldolase, nesse período, estaria em parte associada à ocorrência de danos secundários (FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993), o que poderia indicar que um efeito favorável do chá mate na permeabilidade da membrana celular no primeiro dia após o dano muscular (PAULSEN et al., 2005) foi alinhado com os benefícios da suplementação na recuperação da força muscular.

Embora tenha mostrado variações significativas, em ambos os grupos, a resposta sérica da aldolase ao dano muscular excêntrico apresentou um decurso diverso do observado em outros estudos, onde aumentos significativos na atividade sérica da aldolase ocorreram principalmente entre 72 a 96 h após o dano (NOSAKA; CLARKSON,

1996; RA et al., 2013; KANDA et al., 2014). Contudo, as diferenças no padrão das respostas da aldolase após o exercício podem estar relacionadas a diferentes fatores, incluindo variabilidade individual (CANTONE; CERRETELLI, 1960; NOAKES, 1987; NOSAKA; CLARKSON, 1996).

Nosaka e Clarkson (1996) relataram que, nos indivíduos mais responsivos, as atividades das enzimas aldolase, creatina quinase, AST e lactato desidrogenase após o exercício excêntrico (24 ações musculares máximas com os músculos flexores do cotovelo) mostraram similares decursos nas mudanças no soro, com atividades máximas entre 72-96 h pós-esforço. Segundo os autores, a atividade da aldolase, nesses indivíduos, alcançou valores 20 vezes maiores em relação ao pré-exercício, enquanto para a creatina quinase este aumento foi de 100 vezes. No presente estudo, os valores mais elevados da aldolase após o dano muscular ocorreram em dois indivíduos do grupo controle e variaram de 8,5 a 14 vezes, comparado ao pré-dano. Nos demais 18 participantes, os valores da enzima no pós-dano foram três vezes menores que no pré-dano. Portanto, esses resultados sugerem que, em nosso estudo, os indivíduos foram pouco responsivos quanto à atividade da aldolase, o que poderia em parte explicar a variabilidade interindividual, assim como a observação de diferentes respostas da enzima entre este e outros estudos (NOSAKA; CLARKSON, 1996; RA et al., 2013; KANDA et al., 2014).

Não obstante, na pesquisa de Kanda et al. (2014) mencionada anteriormente, ao contrário da creatina quinase, a variabilidade interindividual na resposta da atividade da aldolase no soro após o exercício excêntrico mostrou ser menor, em comparação às enzimas creatina quinase, lactato desidrogenase, AST e ALT. Em concordância com esses achados, no presente estudo, a variabilidade interindividual na atividade aldolase foi menor, em ambos os grupos de tratamento (CVs = 39,4—75,5% e 60,1—108,7%, no chá mate e controle, respectivamente), em comparação à creatina quinase. Portanto, em conjunto, nossos achados parecem apoiar a ideia de que a medida da atividade sérica da aldolase pode ser um bom indicador sanguíneo do dano muscular (KANDA et al., 2014), o que, aparentemente, foi mais evidenciado com o consumo de chá mate.

6.2 EFEITOS DO CHÁ MATE NA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O consumo de chá mate por um período de aproximadamente oito dias teve tamanho do efeito forte ($d = 0,83$) e significativo ($P = 0,002$)

sobre a concentração de fenóis totais no plasma no pré-dano muscular, o que está em conformidade com os benefícios da erva mate verificados em estudos de curta duração (SILVA et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2009; FERNANDES et al., 2012). Por exemplo, o consumo de chá mate por sete dias diminuiu a concentração de marcador da lipoperoxidação no plasma de indivíduos saudáveis (MATSUMOTO et al., 2009).

Após o dano muscular, o efeito do chá mate na concentração de fenóis totais no plasma foi atenuado em 24 e 48 h (4,6 e 4,3%, respectivamente), possivelmente em razão do incremento em relação ao pré-dano, nos valores da variável, nesses momentos (7,5 e 10,5%, em 24 e 48 h, respectivamente), nos indivíduos do grupo controle (Apêndice H16). Além disso, é interessante notar que, em ambos os grupos, os valores absolutos de fenóis totais no plasma em 72 h mostraram significativa redução em relação a 48 h, mas não, em comparação ao pré-dano (Figura 15). Não obstante, o tamanho do efeito do chá mate se manteve médio em 24 h ($d = 0,66$; $P < 0,001$), 48 h ($d = 0,50$; $P = 0,075$) e 72 h ($d = 0,70$; $P = 0,007$) pós-dano. Portanto, esses resultados parecem indicar a ocorrência de uma efetiva mobilização de compostos fenólicos — possivelmente de estoques teciduais (RAMEL; WAGNER; ELMADFA, 2004) —, nos dois primeiros dias após o dano muscular excêntrico, seguida de importante utilização desses fitoquímicos entre o segundo e terceiro dia.

Destaca-se ainda que, no grupo controle, a diminuição na concentração plasmática de compostos fenólicos de 48 a 72 h após o exercício acompanhou, parcialmente, uma progressiva redução nos valores sanguíneos de GSH, que se iniciou a partir de 24 h pós-esforço (Figura 16). Assim sendo, esses achados sugerem que a diminuição na disponibilidade de GSH induzida pelo dano muscular resultou em maior utilização de antioxidantes dietéticos, notadamente neutralizadores de radicais lipídicos (RICE-EVANS et al., 1996).

Nossos resultados estão em conformidade com os relatos de elevação nas concentrações sanguíneas de ácido úrico e bilirubina, bem como na atividade da catalase, em contrapartida a desequilíbrios no *status* de GSH entre 24 e 96 h após o dano (THEODOROU et al. 2011; MICHAILIDIS et al., 2013). Juntos, esses achados sugerem que, durante a recuperação do dano muscular excêntrico, potentes antioxidantes, particularmente neutralizadores de peróxidos (WINTERNITZ; MELOY, 1908; AMES et al., 1981; STOCKER et al., 1987; RICE-EVANS et al., 1996), são ativamente mobilizados para o sangue, a fim de substituir o antioxidante depletado (i.e., GSH) em sua

função (WATSON et al., 2005), bem como fortalecer a defesa antioxidante plasmática.

Todavia, é possível que, com o consumo de chá mate, os compostos fenólicos plasmáticos possam ter complementado mais eficientemente o sistema GSH (JI et al., 2013) na circulação (SILVA et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2009) e/ou em tecidos (LANZETTI et al., 2008; JI et al., 2013), e, assim, favorecido a recuperação muscular. Em apoio a essa ideia, estaria, por exemplo, a observação de que, enquanto, no grupo controle, a recuperação da força isométrica no período 0-24 h foi fortemente associada com a variação na concentração de GSH no sangue entre 24-48 h ($r = -0,78$; $P < 0,001$), no grupo chá mate, essa recuperação na força isométrica foi moderadamente associada à variação na concentração de fenóis totais no plasma no período PRÉ-24 h ($r = -0,53$; $P = 0,024$) (Quadro 3). Juntas, essas associações sugerem que a melhor recuperação na força isométrica durante o primeiro dia pós-dano, nos indivíduos que consumiram chá mate (Figuras 12A-B e Apêndices H3 e H4), foi associada à efetiva utilização de compostos fenólicos circulantes, com consequente preservação da GSH sanguínea no segundo dia de recuperação.

Além disso, após o dano, observou-se que, nos indivíduos do grupo chá mate, tanto os valores absolutos da força isométrica como os da força excêntrica em 0 h foram inversamente associados com a concentração de GSH no sangue em 72 h ($r = -0,55$; $P = 0,017$ e $r = -0,76$; $P = 0,017$, respectivamente) (Quadros 3 e 4), e, por outro lado, diretamente associados com a concentração de fenóis totais no plasma em 72 h ($r = 0,53$; $P = 0,023$ e $r = 0,48$; $P = 0,042$, respectivamente). Logo, em conjunto, essas associações parecem indicar que o consumo de chá mate favoreceu a eficiência do efeito poupador de GSH, mediado por compostos fenólicos (BURKITT; DUNCAN, 2000; JI et al., 2013), ao longo de três dias pós-dano muscular excêntrico.

6.3 EFEITOS DO CHÁ MATE EM MARCADORES SANGUÍNEOS DO ESTRESSE OXIDATIVO

6.3.1 *Status* de glutationa

O estado redox do sistema glutaciona no sangue foi favoravelmente influenciado pelo consumo de chá mate antes e durante a recuperação do dano muscular (efeito do tratamento $P = 0,027$; Figura 16). A suplementação teve um tamanho do efeito médio sobre a razão GSH/GSSG antes ($d = 0,61$) e em 24 h ($d = 0,62$) e 72 h ($d = 0,68$) pós-dano. Esses resultados parecem ter sido particularmente associados aos

tamanhos do efeitos grandes do chá mate na concentração sanguínea de GSH, antes ($d = 1,08$) e após o dano ($d = 0,91$ e $d = 1,13$, em 48 e 72 h, respectivamente), uma vez que os valores relativos e absolutos de GSSG não foram diferentes entre os grupos ao longo do tempo.

Juntos, esses achados concordam com os potenciais benefícios do consumo de chá mate na expressão/atividade de componentes enzimáticos do sistema glutatona (MATSUMOTO et al., 2009; JI et al., 2013), o que pode, portanto, ter favorecido, a conversão muscular de GSSG à GSH (LEEUEWENBURGH; JI, 1995). Além disto, a redução de peróxidos lipídicos mediada por constituintes antioxidantes do chá mate (SILVA et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2009) pode ter resultado em efeito poupador de GSH (BURKITT; DUNCAN, 2000; JI et al., 2013). Ademais, o consumo de chá mate pode ter favorecido a produção hepática de GSH. Em estudo com animais, o ácido 5-cafeoilquínico reverteu a diminuição no conteúdo de GSH bem como na expressão/atividade hepática da glutatona redutase e da glutamato-cisteína ligase — enzimas chaves na síntese *de novo* da GSH —, em situação de severo dano tecidual (JI et al., 2013). Vale lembrar que o ácido 5-cafeoilquínico foi o ácido fenólico da família do ácido clorogênico quantitativamente mais importante no chá mate consumido pelos participantes do estudo (Tabela 1).

Apesar da razão GSH/GSSG não ter sido alterada significativamente durante o período de recuperação, o consumo de chá mate preveniu a variação negativa de 6,4% na concentração de GSH em 72 h, em relação ao pré-dano ($P = 0,016$) (Apêndice H19). Embora as evidências de desequilíbrios redox possam ser encontradas no sangue por vários dias após o dano muscular excêntrico (PASCHALIS et al., 2007; GOLDFARB et al., 2011; MICHAILIDIS et al., 2013), poucos são os relatos quanto ao efeito do consumo de alimentos ricos em fitoquímicos no *status* de glutatona sanguínea pós-dano excêntrico (GOLDFARB et al., 2011). De forma semelhante ao presente estudo, Goldfarb et al. (2011) relataram que a suplementação com concentrado de vegetais e frutas vermelhas preveniu a elevação significativa na razão GSSG/GSH total em 6 h após o dano muscular excêntrico.

Ainda que as variações significativas no estado antioxidante do sangue possam não necessariamente refletir as alterações redox nos tecidos (ARGÜELLE et al., 2004; GOLDFARB et al., 2011), no presente estudo, correlações significativas foram observadas entre a força muscular e a concentração de GSH ou da razão GSH/GSSG no sangue, em ambos os grupos (Quadros 3-5). Portanto, é razoável pensar que, nos indivíduos estudados, o *status* de glutatona sanguínea tenha

influenciado a dinâmica redox no músculo esquelético ou vice-versa (JI; FU, 1992; LEEUWENBURGH; JI, 1995).

Em apoio a essa hipótese, por exemplo, observou-se que, no grupo chá mate, após a recuperação significativa no pico de torque isométrico no período 0-24 h pós-dano ($P < 0,001$), o tamanho do efeito do tratamento sobre a concentração sanguínea de GSH diminuiu consideravelmente em 24 h ($d = 0,36$), em comparação ao pré-dano ($d = 1,08$) (Apêndice H18), sugerindo, assim, um efetivo consumo muscular de tiol circulante (JI; FU, 1992; LEEUWENBURGH; JI, 1995; NIKOLAIDIS et al., 2007). Nesse contexto, vale salientar ainda que, em 24 h após o dano muscular, os valores absolutos da força isométrica foram inversamente associada à concentração de GSH, no grupo chá mate ($r = -0,50$; $P = 0,035$). Nos indivíduos do grupo controle, de modo similar, uma associação inversa foi observada entre os valores da força concêntrica e a concentração de GSH no sangue em 24 h ($r = -0,51$; $P = 0,037$) (Quadro 4). Portanto, em conjunto, esses resultados sugerem que, independente do tratamento, a recuperação na força muscular no primeiro dia após o dano muscular excêntrico foi associada à efetiva utilização de GSH no sangue (NIKOLAIDIS et al., 2007; PASCHALIS et al., 2007).

Importa lembrar ainda que, no grupo chá mate, associações inversas foram observadas entre os valores absolutos das forças isométrica, concêntrica e excêntrica em 0 h e a concentração de GSH em 24 h pós-dano ($r = -0,54$; $P = 0,022$; $r = -0,71$; $P = 0,001$ e $r = -0,55$; $P = 0,019$, respectivamente). Além disso, neste grupo, os valores da força excêntrica em 0 h foram também associada com a concentração de GSH em 48 h ($r = -0,50$; $P = 0,033$) e em 72 h ($r = -0,76$; $P < 0,001$) pós-esforço. Juntas, essas associações indicam resposta positiva na concentração de GSH no sangue (LEEUWENBURGH; JI, 1995) ao longo da recuperação proporcionalmente à magnitude do dano muscular inicial. De forma semelhante, no grupo controle, uma associação inversa ocorreu entre os valores absolutos da força concêntrica em 0 h e a concentração de GSH em 24 h ($r = -0,67$; $P = 0,033$). No entanto, Nikolaidis et al. (2007) relataram correlação direta entre o percentual de redução no pico de torque isométrico nos músculos flexores do joelho imediatamente após cinco séries de 15 ações musculares excêntricas máximas e o percentual de diminuição na concentração de GSH no sangue em 72 h em relação ao pré-esforço ($r = 0,61$; $P < 0,05$). Portanto, com base nas observações de Nikolaidis et al., (2007), é possível que, no presente estudo, as associações entre a força muscular logo após o dano e a concentração de GSH no sangue além de 24 h pós-dano, nos

indivíduos do grupo controle, tenham refletido consumo de tiol sanguíneo. Isso concordaria com a observação de que, nesse grupo, em 72 h após o dano, a concentração sanguínea de GSH diminuiu significativamente, em relação a 24 h ($P = 0,022$) (Figura 16 e Apêndice H18).

Em conjunto, nossos resultados sugerem uma resposta positiva na concentração de GSH no sangue (LEEUWENBURGH; JI, 1995) após o dano muscular excêntrico, na proporção da magnitude do dano inicial; resposta esta que parece ter sido mais eficientemente sustentada ao longo da recuperação somente com o consumo de chá mate.

Importa salientar também que, nos participantes que consumiram chá mate, apenas uma única e forte associação foi observada entre a recuperação da força muscular (excêntrica) e a variação na razão GSH/GSSG (período 48-72 h pós-dano; $r = -0,73$; $P < 0,001$) (Quadro 5). Isto sugere que o potencial redox do sangue, desses indivíduos, não foi consideravelmente influenciado pela recuperação na força até 48 h pós-dano, apesar das associações inversas entre a força muscular e a concentração de GSH no sangue, em especial no primeiro dia após o dano (Quadros 3-5). Não obstante, nesse grupo, os valores de GSH e da razão GSH/GSSG não se alteraram significativamente até o terceiro dia (Figuras 16 e 18 e Apêndices H18 e H24).

Portanto, conclui-se que as associações entre a força muscular e as concentrações de GSH no sangue e fenóis totais no plasma, observadas neste estudo, indicam que o consumo de chá mate influenciou positivamente as relações entre as alterações na função muscular e as respostas de antioxidantes (endógenos e dietéticos) na circulação induzidas pelo dano muscular excêntrico.

6.3.2 Hidroperóxidos lipídicos e carbonilas protéicas no plasma

Tem sido proposto que as alterações nas concentrações de marcadores do estresse oxidativo após o exercício excêntrico poderiam, em parte, estar associadas ao dano muscular excêntrico (GOLDFARB et al., 2005; PASCHALIS et al., 2007). Por exemplo, Paschalis et al. (2007) propuseram que a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados de membranas de fibras musculares danificadas seria um dos prováveis mecanismos por meio dos quais o exercício excêntrico (5 séries de 15 ações musculares excêntricas máximas com os músculos extensores do joelho) resultou na elevação de marcadores sanguíneos da lipoperoxidação em 48 e 72 h pós- esforço. Contudo, as especulações sobre as fontes de moléculas oxidadas na circulação após o dano

muscular excêntrico necessitam ainda ser corroboradas (QUINDRY et al., 2007; GOLDFARB et al., 2011).

No presente estudo, as concentrações de hidroperóxidos lipídicos no plasma não se modificaram significativamente ao longo do período pós-dano, em ambos os grupos (Figura 19). Apesar disso, em conformidade com as considerações de Paschalis et al. (2007), a concentração plasmática hidroperóxidos lipídicos, nos indivíduos do grupo controle, foi associada diretamente à atividade sérica da aldolase em 24 h pós-dano ($r = 0,65$; $P = 0,026$) (Quadro 6), o que sugere uma relação entre as mudanças na concentração de hidroperóxidos lipídicos e um provável dano na membrana induzido pelo dano muscular excêntrico. No entanto, em 48 h, a atividade da aldolase, no controle, foi inversamente associada à concentração de hidroperóxidos lipídicos em 72 h ($r = -0,61$; $P = 0,043$). Uma interpretação plausível para essa inversão no padrão de associação entre as variáveis poderia ser um incremento na defesa antioxidante no sangue, em resposta ao dano muscular excêntrico (PASCHALIS et al., 2007).

Nesse sentido, destaca-se que, no grupo controle, associações inversas significativas ocorreram entre as variações na concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma e na razão GSH/GSSG entre PRÉ-24 h ($r = -0,65$; $P = 0,026$) e 24-48 h ($r = -0,75$; $P = 0,007$) pós-dano (Quadro 6). No entanto, visto que, neste grupo, os valores sanguíneos de GSH, mas não os de GSSG, decresceram significativamente em 48 e 72 h ($P = 0,040$ e $P = 0,009$, respectivamente), em comparação a 24 h (Figuras 16 e 17), é possível que eventuais diminuições ou elevações na razão GSH/GSSG no sangue tenham refletido, respectivamente, uma importante utilização de GSH e uma mobilização de GSH das reservas hepáticas (LEEUWENBURGH; JI, 1995). De forma semelhante, no grupo chá mate, forte associação ocorreu entre as variações na concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma no período PRÉ-48 h e na razão GSH/GSSG no sangue no período PRÉ-72 h ($r = -0,73$; $P = 0,001$) (Quadro 6). Apesar disso, as concentrações sanguíneas de GSH e GSSG, bem como a razão GSH/GSSG, não se alteraram significativamente ao longo do tempo. Porém, a concentração plasmática de fenóis totais diminuiu significativamente em 72 h, em relação a 24 e 48 h ($P = 0,002$ e $0,024$, respectivamente; Figura 15). Assim, juntos, esses resultados sugerem que, no grupo chá mate, o efeito poupador de compostos fenólicos relativo à GSH favoreceu o potencial redox sanguíneo após o dano muscular (BURKITT; DUNCAN, 2000).

Embora não esteja claro se alterações na concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma após o dano muscular excêntrico

seja em parte reflexo da peroxidação lipídica no músculo danificado (ARGÜELLE et al., 2004; GOLDFARB et al., 2011), nota-se que associações diretas fortes ocorreram entre a recuperação da força muscular e a concentração hidroperóxidos lipídicos no plasma ao longo de três dias de recuperação, em ambos os grupos de tratamento (Quadros 3-5). Por exemplo, no grupo controle, a recuperação na força isométrica entre PRÉ-24 h foi fortemente associada à variação na concentração plasmática de hidroperóxidos lipídicos entre PRÉ -72 h ($r = 0,80$; $P = 0,002$). No grupo chá mate, uma forte associação foi observada entre a recuperação na força isométrica e a variação na concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma entre PRÉ -72 h pós-dano ($r = 0,77$; $P = 0,004$). Uma justificativa plausível para essas associações diretas entre a recuperação da força muscular e a concentração plasmática de produtos da lipoperoxidação consistiria na ocorrência processos metabólicos — i.e., via LOX (JACKSON; WAGENMAKERS; EDWARDS, 1987) —, necessários para a regeneração estrutural do músculo (ARMSTRONG, 1990; ARMSTRONG; WARREN; WARREN, 1991), ao mesmo tempo em que a sua capacidade funcional é gradativamente recuperada (PAULSEN et al., 2010; 2012).

Por fim, conclui-se que, ao longo de três dias de recuperação do dano muscular excêntrico, é provável que, em ambos os grupos de tratamento, eventuais elevações ou diminuições na concentração plasmática de fenóis totais tenham refletido, respectivamente, mobilização de antioxidantes dietéticos dos estoques teciduais (RAMEL; WAGNER; ELMADFA, 2004) e ativa utilização de compostos fenólicos circulantes, a fim de, possivelmente, auxiliar o sistema glutationa na função de neutralizar peróxidos orgânicos gerados em membranas celulares (THOMAS et al., 1990; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996). Neste contexto, parece que o consumo de chá mate proporcionou um efetivo efeito poupador de GSH (BURKITT; DUNCAN, 2000; JI et al., 2013).

Aumentos significativos na concentração de carbonilas protéicas na circulação foram observados a partir de 6 h após o dano muscular excêntrico (GOLDFARB et al., 2011), com valores máximos entre 24 e 72 h pós-dano (LEE et al., 2002; GOLDFARB et al., 2005; THEODOROU et al., 2011). Há relatos de elevada concentração sérica de carbonilas protéicas significativamente até sete dias depois do dano muscular excêntrico (SILVA et al., 2010).

No presente estudo, os valores (absolutos e relativos) de carbonilas protéicas no plasma não foram significativamente diferentes, entre os grupos chá mate e controle, antes e durante o período de

recuperação (Figura 20 e H31-32). Apesar disso, observou-se um progressivo aumento na variação de carbonilas protéicas no plasma após o dano, no grupo controle. Ademais, nesse grupo, a concentração de carbonilas protéicas foi significativamente maior em 72 h, em comparação ao PRÉ ($P = 0,037$). Portanto, no grupo controle, as respostas de carbonilas protéicas no plasma ao dano muscular parecem concordar com aquelas observadas por outros autores (GOLDFARB et al., 2005; THEODOROU et al., 2011). Logo, em conjunto, os achados sugerem que o consumo de chá mate atenuou as mudanças na concentração plasmática do marcador ao longo do tempo, após o dano.

As associações entre variações na concentração de carbonilas protéicas na circulação e o dano muscular excêntrico são conflitantes. Goldfarb et al. (2005) sugeriram que o aumento na concentração de carbonilas protéicas na circulação após o exercício excêntrico poderia estar ligado à invasão de fagócitos no músculo danificado. Por outro lado, Lee et al. (2002) ressaltaram que a concentração elevada de carbonilas protéicas verificada no plasma em 24 e 48 h pós-exercício excêntrico (60 ações musculares excêntricas com os músculos flexores do cotovelo) não permitiu a conclusão quanto à procedência do marcador (i.e. muscular ou de outros tecidos). Não obstante, os autores relataram que a concentração de carbonilas protéicas no plasma foi significativamente associada ($r = 0,50$; $P < 0,001$) com sintomas da DMIT ao longo de 72 h após o esforço. Em estudo posterior, Goldfarb et al. (2011) observaram que a suplementação com concentrado de vegetais e frutas vermelhas atenuou o aumento na concentração plasmática de carbonilas protéicas, ocorrido de 6 a 72 h após o exercício excêntrico (4 séries de 12 ações musculares excêntricas com os músculos flexores do cotovelo), porém, o déficit na força muscular isométrica e os sintomas da DMIT (amplitude de movimento articular e sensibilidade) não foram atenuados com a suplementação. Os autores concluíram que o estresse oxidativo provavelmente não seria o fator primário contribuinte para as alterações funcionais no músculo em resposta ao exercício excêntrico.

Dentro dessas perspectivas, é plausível pensar que a elevação na concentração circulante de carbonilas protéicas após o dano muscular excêntrico seja, por outro lado, um produto de processos oxidativos associados à inflamação durante o processo de reparação muscular (TIDBALL, 2005; QUINDRY et al., 2007; PAULSEN et al., 2012). De acordo com essa consideração, Quindry et al. (2007) encontraram fortes associações diretas entre a concentração máxima de carbonilas protéicas no plasma e o pico de torque concêntrico de 24 a 96 h pós-exercício

excêntrico (3 séries de 50 ações musculares excêntricas com os músculos extensores do joelho). Esse achado está em conformidade com as evidências de que o aumento na degradação miofibrilar e a progressiva redução no conteúdo de proteínas contráteis depois de 24 h após o dano muscular excêntrico não parecem resultar em redução adicional na força muscular, mas, paradoxalmente, seriam acompanhadas de gradativa recuperação na força muscular (LOWE et al., 1995; INGALLS; WARREN; ARMSTRONG, 1998). Concordando com os resultados de Quindry (2007), no presente estudo, associações diretas foram observadas em ambos os grupos de tratamento (Quadros 3-5). Destaca-se, por exemplo, que, nos indivíduos do grupo chá mate, forte associação direta ocorreu entre a recuperação da força concêntrica entre 0-24 h pós-dano — a qual foi significativamente maior que nos indivíduos que consumiram controle — e a variação na concentração de carbonilas protéicas no plasma entre PRÉ-48 h ($r = 0,82$; $P < 0,001$).

6.4 EFEITOS DO CHÁ MATE EM MARCADORES DA INFLAMAÇÃO

6.4.1 Leucócitos sanguíneos

Considera-se que alterações no número de leucócitos circulantes após o exercício excêntrico pode ser indício de resposta inflamatória ao dano muscular (SAXTON et al., 2003; PAULSEN et al., 2005). No presente estudo, no entanto, o número de leucócitos totais, granulócitos, monócitos e linfócitos no sangue circulante não foi modificado pelo dano muscular excêntrico, bem como pelo consumo de chá mate. Por outro lado, considerando que o fenômeno da leucocitose secundária ocorre, frequentemente, antes de 24 h após o exercício excêntrico (PIZZA et al., 1995; PIZZA; BAYLIES; MITCHELL, 2001; PAULSEN et al., 2005; PEAKE et al., 2006), não se pode desconsiderar que, neste estudo, mudanças significativas nas concentrações de populações de leucócitos, na circulação, possam ter ocorrido entre 0 e 24 h após o dano muscular. Além disto, os nossos resultados estão em parcial acordo com os de outros estudos, onde a quantidade sanguínea de leucócitos entre 24-96 h após o exercício excêntrico foi semelhante aos valores basais, apesar de, precedentemente a esse período, terem ocorrido leucocitose, neutrofilia e/ou monocitose secundárias (PIZZA et al., 1995; SAXTON et al., 2003; MILIAS et al., 2005; PEAKE et al., 2006). É provável que nesses estudos, e, possivelmente, no presente, parte dos fagócitos que foram mobilizados tardiamente da medula óssea para a circulação (SUZUKI et al., 1999a) tenham aderido ao endotélio vascular e/ou se

infiltrado no músculo danificado principalmente durante as primeiras 24 h após o dano muscular (FIELDING et al., 1993; GLEESON et al., 1995; MacINTYRE et al., 1996; PAULSEN et al., 2010; 2013). Empregando um protocolo de exercício em *step* (40 min), Gleeson et al. (1995) verificaram que, posteriormente à ocorrência de leucocitose, neutrofilia e monocitose em 4 h pós-esforço, o número de leucócitos totais circulantes, neutrófilos e monócitos em 24 h foi semelhante ao basal e significativamente menor entre 48 h e 72 h pós-esforço. Os autores sugeriram que essas reduções foram causadas por aumento na marginação de leucócitos, que antecede o extravasamento dessas células para os tecidos afetados.

De modo geral, as mudanças no número de leucócitos totais, granulócitos e monócitos foram associadas com a recuperação da força muscular ao longo do tempo após o dano muscular (Quadros 3-5), o que parece apoiar a hipótese de um papel do dano muscular nas respostas dessas células na circulação após o exercício excêntrico (PAULSEN et al., 2005). Neste sentido, observou-se, por exemplo, que, no grupo chá mate, a variação no número de leucócitos totais no sangue no período PRÉ-24 h foi diretamente associada com a recuperação da força isométrica entre 48-72 h ($r = 0,56$; $P = 0,015$), porém, a associação foi inversa entre a variação no número de leucócitos totais entre 24-48 h e a recuperação da força isométrica entre 48-72 h pós-dano ($r = -0,65$; $P = 0,004$). Juntos, esses resultados estão de acordo com possível mobilização de leucócitos no primeiro dia após o dano muscular excêntrico (PAULSEN et al., 2005), seguida da infiltração muscular dessas células entre o primeiro e o segundo dia (GLEESON et al., 1995), sendo que essas respostas teriam influenciado na recuperação muscular entre o segundo e o terceiro dia de recuperação.

No grupo controle, associação inversa ocorreu entre a recuperação da força isométrica entre 0-24 h e a variação no número de leucócitos totais no sangue entre 24-48 h ($r = -0,58$; $P = 0,013$) após o dano muscular. Vale lembrar que, entre 0-24 h, a taxa de recuperação na força isométrica, no grupo controle, foi de apenas 3,5% (i.e., 18% inferior ao grupo chá mate; $P < 0,001$), o que, portanto, pode ter induzido uma mobilização tardia de leucócitos entre o primeiro e o segundo dia após o dano (PIZZA et al., 1996; MILIAS et al., 2005). Em conjunto, esses resultados estão em conformidade com a ideia de que a presença de leucócitos no músculo, provindos do sangue após o dano muscular estaria fundamentalmente associada à necessidade de regeneração estrutural/funcional do órgão afetado (PAULSEN et al., 2010; 2012).

Independentemente do consumo de chá mate ou de controle, a variação percentual no número de linfócitos no sangue após o dano muscular não foi significativa ao longo tempo, em relação ao momento pré-dano. Nota-se, entretanto, que, em ambos os grupos, esses valores foram negativos de 24 a 72 h. Reduções significativas no número de linfócitos circulantes têm sido observadas dentro de 6 h (MALM et al., 1999; 2004; MILLAS et al., 2005) e/ou entre 24 e 72 h após o exercício excêntrico (PIZZA et al., 1995; MILLAS et al., 2005). Embora pouca atenção tem sido dada à importância dos linfócitos no dano muscular excêntrico, recente estudo sugeriu notável presença desse tipo celular no endomísio e no sarcoplasma em fibras esqueléticas danificadas, entre 48-96 h após o exercício excêntrico (PAULSEN et al., 2013). Portanto, esses resultados parecem indicar um papel dos linfócitos no processo de regeneração muscular.

6.4.2 IL-1 β , IL-6, TNF- α e PCR no soro

O consumo de chá mate afetou positivamente as concentrações séricas de IL-1 β , IL-6 e TNF- α antes e/ou após o dano muscular excêntrico. Esses resultados parecem corroborar o potencial do chá mate para modular a expressão dessas citocinas, segundo verificado em estudos *in vitro* (PUANGPRAPHANT; DE MEJA, 2009) e em animais (ARÇARI et al., 2011; BORGES et al., 2013). Com base nas evidências dessas pesquisas, é provável que, no presente estudo, os efeitos anti-inflamatórios do chá mate tenham sido, pelo menos em parte, envolvidos a modulação da ativação via NF- κ B.

Aumento na concentração circulante de IL-1 β , IL-6 e/ou TNF- α nas primeiras 24 h pós-exercício excêntrico foi observado em vários estudos (PAULSEN et al., 2005; HELLSTEN et al., 1997; SMITH et al., 2000; MICHAILIDIS et al., 2013), mas não em outros (SMITH et al., 2000; HIROSE et al., 2004; TROMBOLD et al., 2010). Além disso, concentrações elevadas dessas citocinas, também, foram encontradas além de 24 h pós-esforço (SMITH et al., 2000; SILVA et al., 2010; MICHAILIDIS, et al., 2013). Porém, esses resultados não foram confirmados em outros estudos (MALM et al., 2004; UDANI et al., 2009; TROMBOLD et al., 2010).

As mudanças nas concentrações de citocinas no plasma, observadas nas primeiras horas após o exercício excêntrico, podem estar associadas às respostas musculares ao estresse metabólico/energético induzido pelo esforço e, não necessariamente, à ocorrência de dano muscular (PEAKE et al., 2006; WILLOUGHBY; McFARLIN; BOIS,

2003; PEDERSEN et al., 2011). Contudo, várias horas ou dias após o esforço, as alterações nos valores plasmáticos de citocinas talvez reflitam, de um modo mais coerente, o decurso e a magnitude dos eventos pró e anti-inflamatórios no músculo afetado (SMITH et al., 2000; PEAKE et al., 2006; SILVA et al., 2010; MICHAILIDIS et al., 2013).

Nos indivíduos do grupo controle, embora variações significativas em relação ao momento pré-dano tenham ocorrido apenas para os valores de IL-1 β em 24 h (28%; $P < 0,050$; Apêndice H44), nota-se que, em 24 h, os valores séricos de TNF- α e da IL-6 24 h apresentaram incremento de ~21% e 32%, respectivamente, em relação ao PRÉ (Apêndices H47 e H50). Portanto, de modo geral, as respostas séricas de IL-1 β , IL-6 e TNF- α ao dano muscular excêntrico, verificadas neste estudo, foram parcialmente concordantes com as relatadas na literatura (SMITH et al., 2000; SILVA et al., 2010; MICHAILIDIS, et al., 2013).

As citocinas IL-1 β , TNF- α e IL-6 são fatores inflamatórios de resposta imediata ao dano tecidual (PETERSEN; PEDERSEN, 2005), o que sugere que a resposta inicial dessas citocinas ao exercício excêntrico pode estar em parte relacionada à magnitude do dano muscular (BRUUNSGAARD et al., 1997). Embora, no presente estudo, o *pool* circulante de IL-1 β , IL-6 e/ou TNF- α possa ter sido influenciado pela sua remoção e/ou liberação por outros tecidos (CANNON et al., 1991; SMITH et al., 2000), aumentos na expressão dessas citocinas no músculo podem ser observados a partir das primeiras horas até vários dias pós-exercício excêntrico (CANNON et al., 1991; MALM et al., 2000; LIAO et al. 2010), o que suporta os nossos achados bem como os de outros autores (SMITH et al., 2000; SILVA et al., 2010; MICHAILIDIS, et al., 2013).

Nos indivíduos do grupo chá mate, a resposta significativa nos valores séricos da IL-1 β em 24 h após o dano ($P < 0,050$) foi prevenida com a suplementação (Tabela 10 e Apêndice H44). Além disso, o chá mate diminuiu significativamente ($P = 0,009$) os valores absolutos de IL-6 e de TNF- α ($P = 0,002$) em 24 h e com tamanhos dos efeitos médios ($d = -0,66$ e $d = -0,60$; respectivamente). Em conjunto, os efeitos positivos do chá mate sobre as concentrações séricas dessas citocinas, no primeiro dia pós-dano, parecem ser condizentes com a modulação de respostas inflamatórias locais, predominantemente pró-inflamatórias, que se iniciam logo após o dano muscular (PEAKE; NOSAKA; SUZUKI, 2005; TIDBALL; VILLALTA, 2010).

Embora as concentrações musculares de citocinas inflamatórias não tenham sido investigadas no presente estudo, é interessante observar que a atenuação, mediada pelo chá mate, nos valores séricos de IL-1 β , TNF- α e IL-6 entre o PRÉ e 24 h pós-dano foram alinhados com os valores significativamente maiores na recuperação da forças isométrica e concêntrica, ocorridos nesse período no grupo chá mate, em relação ao controle. Nesse contexto, ressalta-se ainda que, no grupo controle, o déficit imediato na força isométrica foi inversamente associado à variação na concentração sérica de TNF- α no período PRÉ-24 h pós-dano ($r = -0,54$; $P = 0,022$). Além disso, neste grupo, uma associação inversa ocorreu também entre a recuperação da força isométrica entre 0-24 h e a variação na concentração sérica de TNF- α no período PRÉ-24 h ($r = -0,53$; $P = 0,024$) (Quadro 3). Em conjunto, esses resultados parecem apoiar ideia de que o efeito positivo do chá mate na concentração sérica das citocinas IL-1 β , TNF- α e IL-6 refletiu, ao menos em parte, a modulação, promovida pela suplementação, de processos inflamatórios ligados à produção danos secundários, com conseqüente retardo na recuperação da força muscular (PYNE, 1994; MacINTYRE et al., 1996; BEATON et al., 2002; BRICKSON et al., 2003).

A expressão de IL-1 β , TNF- α e IL-6 no músculo posteriormente a 24 h após o dano muscular excêntrico parece ser particularmente importante nos processos de catabolismo protéico e regeneração muscular (CANNON et al., 1991; FIELDING et al., 1993; WARREN et al., 2002; LI et al., 2003; TIDBALL; VILLALTA, 2010). Ademais, a IL-6 pode também exercer efeitos anti-inflamatórios (para revisão: PETERSEN; PEDERSEN, 2006) como, por exemplo, a atenuação na produção de IL-1 e TNF- α por monócitos ativados (SCHINDLER et al., 1990). Em consonância com essas evidências, as variações positivas na concentração sérica de IL-6 de 24 a 96 h (Apêndice H47), ocorridas no grupo controle, foram acompanhadas de diminuição significativa nos valores de IL-1 β em 48 h, em relação a 24 h ($P < 0,05$; Tabela 10). De modo semelhante, a variação na concentração TNF- α em relação ao PRÉ reduziu de 21%, em 24 h, para 4%, em 48 h (Apêndice H50). Em apoio às nossas observações, significativas diminuições ou ausência de alteração nas concentrações circulantes de IL-1 β e TNF- α concomitantemente ao aumento de IL-6 foram verificadas entre 24-96 h pós-exercício excêntrico (HELLSTEN et al., 1996; SMITH et al., 2000).

O efeito do consumo chá mate sobre as concentrações séricas de TNF- α foi atenuado em 48 h (tamanho do efeito médio; $d = -0,54$) e tornou-se pequeno em 72 h (tamanho do efeito; $d = -0,41$). Ressalta-se

que, no grupo chá mate, a variação na concentração de TNF- α em relação ao PRÉ foi 57% e 23%, em 48 e 72 h, respectivamente (Figura 23 e Apêndices H49 e H50), sugerindo que o consumo de chá mate não impediu a resposta da citocina possivelmente necessária nos processos de regeneração muscular (WARREN et al., 2002; LI et al., 2003; TIDBALL; VILLALTA, 2010). Por outro lado, em 48 h, o tamanho do efeito do chá mate nas concentrações de IL-6 foi médio ($d = -0,63$), tornando-se grande ($d = -0,86$) em 72 h (Apêndice H46).

Não obstante à provável importância do TNF- α e da IL-6 na regeneração do músculo após o dano (para revisão: TIDBALL; VILLALTA, 2010), a modulação promovida pelo chá mate nas concentrações séricas dessas citocinas depois de 24 h após o dano não parece ter influenciado negativamente a recuperação muscular, visto que não houve diferenças significativas, entre os grupos chá mate e controle, quanto aos valores relativos e absolutos das forças isométrica, concêntrica e excêntrica entre 48 e 72 h. Com efeito, de modo geral, a evolução desses valores ao longo tempo parecem ter sido superiores com o consumo de chá mate, conforme sugerido, por exemplo, na significativa interação tempo x tratamento nas forças isométrica ($P < 0,050$) e concêntrica ($P < 0,050$) (Figuras 12A-B e 13A-B, respectivamente).

Os valores absolutos e relativos da PCR no soro foram afetados positivamente pelo consumo de chá mate entre 48 e 72 h pós-dano (Tabelas 11 e Apêndice H52). Não obstante, a concentração sérica de PCR não foi alterada de forma significativa pelo dano muscular excêntrico, o que concorda com os relatos de outros estudos (MALM et al., 2004; MILIAS, 2005; TROMBOLD et al., 2010). Apesar disso, concentrações significativamente elevadas de PCR no soro foram verificadas ao longo de vários dias após o exercício excêntrico (PHILLIPS et al., 2003; PAULSEN et al., 2005; MICHAILIDIS et al., 2013). Diferenças quanto ao protocolo do exercício, à magnitude do dano muscular e à grande variabilidade na resposta sistêmica da proteína, provavelmente, contribuem com a disparidade de resultados entre as pesquisas. No presente estudo, por exemplo, os coeficientes de variabilidade dos valores absolutos PCR variaram entre 71-167%, no grupo chá mate, e entre 84-153%, no grupo controle.

Diversas das ações da PCR são de potencial relevância no contexto do dano muscular excêntrico, particularmente, a reparação de danos na membrana celular e a remoção de debris celulares (para revisão: HACK et al., 1997; BLACK; KUSHNER; SAMOLS, 2004). A PCR possui um sítio de ligação dependente de Ca^{2+} para a fosfocolina,

que é um componente de fosfolipídeos de membranas celulares, mas ao qual a PCR tem acesso somente em situação de dano tecidual (HACK et al., 1997; THOMPSON; PEPYS; WOOD, 1999). Além disto, a PCR pode se ligar a várias outras estruturas celulares, incluindo os elementos de matriz extracelular, laminina e fibronectina (TSENG; MORTENSEN, 1989; BLACK; KUSHNER; SAMOLS, 2004). Assim, é provável que a PCR tenha participação proeminente nos processos envolvidos com a reparação do sarcolema após o dano muscular.

Em apoio a essa hipótese, estariam talvez as correlações significativas observadas entre os valores da PCR e atividade da creatina quinase e da aldolase no soro ao longo do período pós-dano (Quadro 6). Por exemplo, associação direta ocorreu entre as variações na concentração sérica da PCR no período PRÉ-24 h e na atividade sérica da creatina quinase no período PRÉ-72 h pós-dano, no grupo chá mate ($r = 0,50$; $P = 0,039$), assim como no grupo controle ($r = 0,57$; $P = 0,013$). Vale lembrar que a variação na atividade da creatina quinase em 72 h em relação ao PRÉ foi significativa ($P < 0,050$) em ambos os grupos (Apêndice H11).

No grupo chá mate, uma associação direta ocorreu entre as variações na atividade sérica da aldolase no período PRÉ-24 h e na concentração sérica da PCR no período 48-72 h ($r = 0,50$; $P = 0,047$). Entretanto, importa lembrar que os valores da aldolase, nesse grupo, não variaram significativamente, em relação ao PRÉ no primeiro dia pós-exercício e, além disso, em 24 h, foram significativamente menores, em comparação ao grupo controle ($P < 0,001$) (Tabela 10). Os valores absolutos da PCR em 48 h, também, tenderam a ser menores ($P = 0,055$) no grupo chá mate, comparado ao grupo controle e, ainda, a variação negativa na concentração da PCR em 48 h, em relação ao PRÉ, foi significativa, no grupo chá mate, mas não no grupo controle (Tabela 11 e Apêndice H52). Por fim, no grupo chá mate, a concentração da PCR no soro em 72 h foi significativamente menor, em relação ao PRÉ. Em conjunto, esses resultados sugerem que a provável atenuação promovida pelo chá mate na ocorrência de danos secundários no sarcolema, durante o primeiro dia após o exercício, pode ter contribuído para a diminuição da liberação hepática de PCR na circulação (revisto por MARNELL; MOLD; DU CLOS, 2005) entre o segundo e terceiro dia pós-esforço.

Malm et al. (2004) não observaram alteração significativa na concentração sérica de PCR em 0, 6, 24, 48, 72 h e 7 dias após o exercício excêntrico (45 min de corrida em declive; 48-57% $VO_{2máx}$). No entanto, segundo os autores, a concentração sérica da PCR foi associada com a presença do antígeno CD11b no epimísio ($r^2 = 0,86$; P

< 0,001). A PCR favorece a deposição do fragmento do complemento C3bi na superfície de células apoptóticas e de debris celulares (GERSHOV, 2000; MERI, 2007), o que facilita o reconhecimento por receptores específicos (ex. CD11b/CD18) presentes em fagócitos (ROSS; LAMBRIS, 1982). No sítio inflamatório, o englobamento de partículas opsonizadas por fagócitos resulta na liberação de moléculas citolíticas e citotóxicas (para revisão: LEE; HARRISON; GRINSTEIN, 2003; TIDBALL, 2005), que, no contexto do dano muscular induzido pelo exercício, supostamente, poderiam contribuir com danos estruturais adicionais e no retardo da recuperação na força muscular pós-esforço (PYNE, 1994; MacINTYRE et al., 1996; BRICKSON et al., 2003).

É interessante notar que, no presente estudo, associações inversas significativas ocorreram entre a PCR e a força muscular, notadamente no grupo controle (Quadros 3-5). Neste grupo, por exemplo, no período PRÉ-24 h, a variação na concentração sérica de PCR foi inversamente associada à recuperação na força isométrica ($r = -0,57$; $P = 0,014$) e na força excêntrica ($r = -0,53$; $P = 0,022$). Em conjunto, esses resultados parecem sugerir a hipótese de que as associações entre a mudança na concentração sistêmica da PCR e a recuperação na força muscular após o dano muscular excêntrico seria em parte mediada por danos secundários causados por neutrófilos ativados. Por outro lado, as respostas da PCR e da função muscular, bem como a presença de fagócitos na fibra, poderiam ser apenas um reflexo do dano e dos subsequentes processos inflamatórios da reparação tecidual. De qualquer modo, neste contexto, parece que o consumo de chá mate teve uma interessante influência modulatória, sem prejudicar a recuperação muscular.

A expressão gênica da PCR no fígado é induzida por IL-6 e esse efeito é maximizado pela presença de IL-1 β (GANTER et al., 1989). A IL-6 estimula também a liberação hepática de PCR (STEENSBERG et al., 2003). Além disso, existem evidências de que a IL-6 aumenta a síntese vascular de PCR induzida por estresse mecânico (ZHOU et al., 2013). Juntas, essas considerações poderiam sugerir que as influências positivas do chá mate nos valores da PCR na circulação poderiam ter sido, em parte, associadas aos efeitos modulatórios da suplementação na concentração da IL-6 e da IL-1 β .

Alguns estudos que investigaram o efeito da suplementação de fitoquímicos antioxidantes nas respostas sistêmicas de mediadores inflamatórios ao exercício excêntrico relataram aumento ou ausência de alteração na concentração sérica/plasmática de IL-1 β , TNF- α , IL-6 e/ou

PCR após o esforço (para revisão: PANZA et al., 2015). Destaca-se que em somente um desses estudos (PHILLIPS et al., 2003) houve evidências de benefícios da suplementação com relação a esses mediadores, particularmente, a atenuação induzida pelo exercício nas concentrações séricas de IL-6 e PCR em 72 h pós-esforço, o que parece estar em parcial acordo com os nossos resultados. Contudo, diferentemente do observado no presente estudo, nenhuma dessas pesquisas relatou efeito do tratamento de forma independente do exercício, o que parece, portanto, enfatizar o excelente potencial anti-inflamatório do chá mate em seres humanos.

6.4.3 Expressão da proteína CD11b em neutrófilos

A elevação, no pós o dano muscular excêntrico, no potencial de adesão de neutrófilos circulantes poderia indicar um recrutamento de células ativadas para atuarem nos processos de reparação do dano muscular (FIELDING et al., 1993; PIZZA et al., 1996). No entanto, no presente estudo, a expressão da cadeia α da integrina Mac-1, CD11b, na superfície de neutrófilos sanguíneos não foi influenciada significativamente pelo dano muscular ou pelo consumo de chá mate, ao longo de 72 h de recuperação (Figura 24), apesar dos significativos déficits na força muscular e respostas na atividade sérica da creatina quinase e da aldolase.

Nossos achados discordaram dos de Pizza et al. (1996), que observaram aumento na expressão de CD11b em neutrófilos circulantes em 24 h após o exercício excêntrico (25 ações musculares excêntricas com os músculos flexores do cotovelo, em banco Scott), em indivíduos não treinados em exercícios contrarresistência. Nesse estudo, a atividade sérica da creatina quinase foi significativamente elevada de 24 a 96 h pós-esforço. Por outro lado, em estudo de Peake et al. (2005a), com corredores bem treinados, a expressão de CD11b em neutrófilos no sangue não se modificou significativamente em 0, 1 ou 24 h após um protocolo de exercício excêntrico em esteira (45 min, 60% $VO_{2m\acute{a}x}$, -10% de inclinação), apesar de significativa resposta na atividade plasmática na creatina quinase, durante o mesmo período. De modo semelhante, Saxton et al. (2003) não encontraram alterações significativas na expressão de CD11b e CD64 em neutrófilos e monócitos circulantes em 4, 24, 48 ou 72 h após exercício excêntrico, realizado em dinamômetro isocinético (2 séries de 25 ações musculares excêntricas máximas com o músculo quadríceps), bem como depois de um protocolo de exercício em *step* (40 min; 20 ciclos/min). Destaca-se que, após o exercício, a atividade sérica da creatina quinase aumentou

significativamente apenas no exercício isocinético (48-96 h), ao passo que, somente com o exercício no step, houve aumento na intensidade da fagocitose, em neutrófilos e monócitos, e do *burst* respiratório, em neutrófilos. Em razão disso, os autores concluíram que as respostas funcionais de leucócitos circulantes após o exercício excêntrico foram independentes da ativação na expressão de receptores e que podem ter sido mais influenciadas pela magnitude do estresse sistêmico (i.e. demanda cardiovascular e metabólica) imposto pelo esforço *per se* do que pelo dano muscular. Ressalta-se, ainda, que os participantes eram fisicamente ativos.

Em conjunto, esses resultados sugerem que, independentemente do consumo de chá mate, o estado de ativação da Mac-1 em neutrófilos pode ter sido influenciado pelo protocolo do exercício empregado e/ou a exposição anterior a exercícios excêntricos (PEAKE; NOSAKA; SUZUKI, 2005). Não obstante, na comparação entre o presente estudo e o de Pizza et al. (1996), as principais diferenças foram quanto ao equipamento utilizado para a execução do exercício e o número de repetições, uma vez que ambas as pesquisas envolveram semelhantes amplitude de movimento articular e velocidade de execução. Além disso, nossos voluntários também não estavam engajados em treinamento contrarresistência. Por outro lado, é importante considerar que o método para isolar os neutrófilos poderia também explicar as discordâncias entre os estudos, com relação à expressão de receptores em leucócitos no sangue periférico (SAXTON et al. 2003). Procedimentos de isolamento para a obtenção de neutrófilos, conforme os empregados por Pizza et al. (1996), podem ativar a expressão de receptores e a função respiratória nessas células (WATSON; ROBINSON; EDWARDS, 1992). A técnica de citometria de fluxo utilizando o sangue total, que foi empregada no presente e noutros estudos (SAXTON et al. 2003; PEAKE et al., 2005a), tem sido considerada potencialmente mais representativa quanto às respostas celulares *in vivo* (SAXTON; POCKLEY, 1998; SAXTON et al., 2003), o que, portanto, sustentaria a proposta de que o dano muscular excêntrico não afeta a expressão de CD11b em neutrófilos circulantes (SAXTON et al. 2003).

Apesar disso, importa considerar que associações inversas foram observadas entre a expressão de CD11b em neutrófilos e a taxa de recuperação na força muscular, nos grupos chá mate e controle (Quadros 3-5), o que, portanto, sugere uma relação do dano muscular excêntrico na expressão da Mac-1, nessas células, após o exercício. É interessante notar que as associações ocorreram principalmente no grupo controle.

Importa lembrar que a expressão da Mac-1 na superfície celular depende da mobilização de grânulos e de vesículas secretórias que contêm a integrina (SENGELØV et al., 1993), que ocorre por meio de mecanismos regulados por espécies reativas (FRATICELLI et al., 1996; SHEN; SUNG; CHEN, 1998). Assim, variações no potencial antioxidante do sangue possivelmente associadas à recuperação muscular após o exercício excêntrico (PASCHALIS et al., 2007; NIKOLAIDIS et al., 2007), talvez, possam ter resultado em mudanças sutis na expressão de Mac-1 na superfície de neutrófilos. Isto poderia em parte explicar, por exemplo, as correlações inversas significativas verificadas, nos grupos chá mate e controle, entre a concentração plasmática de fenóis totais e a expressão de CD11b em neutrófilos (Quadro 6). Neste sentido, é relevante informar que há evidências de que constituintes fitoquímicos, incluindo ácidos clorogênicos, podem modular a expressão da Mac-1 na superfície de neutrófilos (SHEN; SUNG; CHEN, 1998; HEBEDA et al., 2011), o que estaria, portanto, em conformidade com a associação inversa verificada, no grupo chá mate, entre a concentração plasmática de fenóis totais e a expressão da CD11b em neutrófilos no momento pré-dano ($r = -0,64$; $P = 0,033$). Outro fato a destacar é que as associações encontradas entre fenóis totais e CD11b em neutrófilos foram todas inversas e ocorreram entre o PRÉ e 24 h pós-exercício, período no qual o chá mate influenciou significativamente a recuperação na força isométrica.

6.4.4 Expressão da proteína p47^{phox} em neutrófilos

A produção de $O_2^{\bullet-}$ pela via NADPH oxidase tem sido vista como um mecanismo crítico, por meio do qual o neutrófilo atua no *clearance* de debris, nos estágios iniciais da regeneração tecidual após o dano muscular induzido pelo exercício (PYNE, 1994; TIDBALL, 2005; BUTTERFIELD; BEST; MERRICK, 2006). O aumento na capacidade de resposta do *burst* oxidativo de neutrófilos sanguíneos foi observado no pós-exercício excêntrico em alguns estudos (CANNON et al., 1990; PYNE et al., 2000), mas não em outros (SAXTON et al., 2003; PEAKE et al., 2005a).

A ativação da NADPH oxidase pode ser regulada pela reunião de suas subunidades na membrana assim como mediante a modulação na expressão desses componentes (para revisão: KATSUYAMA, 2010). Inclusive, a expressão de subunidades da NADPH oxidase e a geração $O_2^{\bullet-}$ em macrófagos têm sido relacionadas ao agravamento da aterosclerose em seres humanos (SORESCU et al., 2002). Contudo, a

possibilidade de mudanças na expressão de subunidades da NADPH oxidase em neutrófilos circulantes após o exercício excêntrico não havia sido examinada, até o presente momento. Além disto, há evidências de que fitoquímicos dietéticos podem modular a expressão de subunidades da NADPH oxidase, bem como a atividade da enzima (CASTILLA et al., 2008; DÁVALOS et al., 2009), porém, neste sentido, não há relatos sobre os efeitos do consumo de bebidas à base de erva mate, em condições de repouso ou de exercício.

Neste estudo, investigou-se o efeito do dano muscular excêntrico, com ou sem o consumo de chá mate, na expressão da subunidade da NADPH oxidase, p47^{phox}, a qual é de especial importância na organização do recrutamento de outras subunidades citoplasmáticas da enzima (para revisão: BEDARD; KRAUSE, 2007). Observou-se que a expressão da p47^{phox} em neutrófilos não se alterou significativamente de 24 a 72 h pós-dano, independentemente do consumo de chá mate. No entanto, a suplementação diminuiu significativamente ($P = 0,050$) a expressão da p47^{phox} nos neutrófilos dos participantes, na condição de repouso, sendo o tamanho do efeito médio ($d = 0,70$) (Figura 25 e Apêndice H57). Essas são as primeiras evidências de que o consumo de chá mate pode modular a expressão de proteína do complexo NADPH oxidase. Reduções na expressão (RNAm e proteína) das subunidades da NADPH oxidase, p47^{phox}, p22^{phox} e gp91^{phox}, foram observadas, *in vitro*, em neutrófilos de indivíduos saudáveis incubados com suco de uva vermelha concentrado. A capacidade de gerar $O_2^{\bullet -}$ foi também atenuada nessas células, indicando modulação na atividade da enzima (DÁVALOS et al., 2009).

Os mecanismos que regulam a expressão gênica da NADPH oxidase em células fagocitárias humanas não estão, ainda, totalmente claros (para revisão: KATSUYAMA, 2010). Contudo, estudos *in vitro* têm sugerido que o controle na expressão de subunidades da enzima em neutrófilos e monócitos parece ser em parte mediado pela via NF- κ B (ANRATHER; RACCHUMI; IADECOLA, 2006; GAUSS et al., 2007). Por exemplo, há relatos de modulação positiva, envolvendo a via NF- κ B, na expressão de p47^{phox}, p67^{phox} e gp91^{phox} em monócitos ativadas por TNF- α (GAUSS et al., 2007).

Considerando as evidências de que o chá mate pode modular a ativação do NF- κ B em células imunológicas ativadas (BORGES et al., 2013), bem como a produção de TNF- α em processo inflamatório (LANZETTI et al., 2008) e, sobretudo, que, no presente estudo, o chá mate teve tamanho do efeito grande ($d = 0,80$) com relação à diminuição

na concentração de TNF- α no soro no pré-exercício, é plausível pensar que a redução significativa na expressão da p47^{phox} em neutrófilos, promovida pelo chá mate, possa ter em parte envolvido a modulação na expressão da p47^{phox} mediada por NF-kB, possivelmente envolvendo a indução por TNF- α .

Foi demonstrado que o aumento induzido por estresse oxidativo na expressão de isoformas da NADPH oxidase (NOX1, NOX2 e NOX4), em macrófagos alveolares de animais tratados com etanol, foi associado à depleção celular e humoral de GSH. A ingestão oral de GSH restabeleceu os *pools* de GSH assim como atenuou o estresse oxidativo e a expressão das NOXs e de suas subunidades, p22^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox} e 9S (YELIGAR et al., 2014). Portanto, esses resultados levantam a hipótese que o tamanho do efeito grande do chá mate ($d = 1,08$) nas concentrações de GSH no sangue no pré-exercício, também, pode ter influenciado a expressão basal da p47^{phox} em neutrófilos sanguíneos.

Apesar da expressão da p47^{phox} em neutrófilos não ter sido alterada de forma significativa ao longo do pós-dano muscular excêntrico, associações inversas ocorreram, no grupo controle, entre a expressão de p47^{phox} em 24 h e os valores absolutos nas forças isométrica ($r = -0,55$; $P = 0,040$) e concêntrica ($r = -0,59$; $P = 0,026$) no tempo 0 h pós-dano. Neste grupo, a expressão da p47^{phox} em 24 h foi também associada com os valores absolutos da força excêntrica em 0 h ($r = -0,66$; $P = 0,011$), em 24 h ($r = -0,65$; $P = 0,011$) e em 48 h ($r = -0,70$; $P = 0,005$) (Quadros 3-5). Juntos, esses resultados sugerem um possível reflexo da magnitude do dano muscular no estado de ativação de neutrófilos sanguíneos, que provavelmente foi influenciado por variações, associadas ao esforço, na concentração de agentes ativadores de fagócitos (ex. TNF- α) na circulação e/ou no potencial redox do sangue (GAUSS et al., 2007; YELIGAR et al., 2014). Neste sentido, importa destacar que, em 24 h pós-dano, a concentração de TNF- α no soro foi significativamente menor nos indivíduos que consumiram chá mate ($P = 0,002$). Além disso, a razão GSH/GSSG no sangue em 24 h tendeu ($P = 0,084$) a ser maior no grupo chá mate que no controle, sendo o tamanho do efeito médio ($d = 0,62$). É interessante notar que, no grupo chá mate, apenas duas correlações significativas diretas ocorreram entre expressão da p47^{phox} e a força muscular, sendo ambas em períodos além de 24 h após o dano. Portanto, em conjunto esses resultados sugerem que a expressão da p47^{phox} em neutrófilos foi indiretamente influenciada pelos benefícios do consumo de chá mate em marcadores do dano

muscular e da inflamação no primeiro dia de recuperação do dano muscular excêntrico.

6.5 POTENCIAIS MECANISMOS ENVOLVIDOS NOS EFEITOS DO CHÁ MATE NOS MARCADORES DO DANO MUSCULAR INVESTIGADOS: PROPOSTAS PARA FUTURAS PESQUISAS

A redução na capacidade de produção de força muscular e o aumento na concentração/atividade de proteínas citosólicas na circulação representam dois dos vários aspectos do dano muscular excêntrico e estão, provavelmente, associados a múltiplos mecanismos (JONES et al., 1986; ARMSTRONG, 1990; TAKEKURA et al., 2001). Além disso, considerando que os determinantes do dano muscular excêntrico (inicial ou tardio) são de natureza mecânica ou metabólica (ARMSTRONG, 1990; MORGAN; ALLEN, 1990; FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993), é provável que essas alterações não necessariamente dividam um mesmo fator causal. Essas ponderações concordam com a conclusão de Fridén e Lieber (2001) de que a permeabilidade da fibra muscular nem sempre está correlacionada com a função contrátil após o exercício excêntrico.

Em razão disso, assim como em virtude da escassez de informações na literatura pertinentes aos efeitos da *I. paraguariensis* no exercício, ressalta-se a complexidade de se propor, com base nos marcadores avaliados, neste estudo, potenciais mecanismos pelos quais o chá mate afetou a recuperação da força muscular e a resposta sérica da aldolase após o dano muscular excêntrico. Além disso, sobressai também a temporalidade dos efeitos da suplementação nesses marcadores do dano muscular: por que os benefícios do chá mate, relativos a esses marcadores, ocorreram particularmente durante o primeiro dia de recuperação?

É provável que as associações entre as alterações em marcadores da inflamação/estresse oxidativo e a recuperação da força muscular após o dano muscular excêntrico, observadas nesta pesquisa, não tenham refletido, em grande parte, uma relação causa-efeito, mas respostas ao dano *per se*, primariamente relacionadas a gradativos e longos processos de reparação e restauração do músculo afetado (PAULSEN et al., 2010; 2013). Por outro lado, não está claro ainda se somente esses processos poderiam justificar uma persistente demora na recuperação na força muscular (MacINTYRE et al., 1996; PAULSEN et al., 2010). A exemplo disso, observou-se queda adicional (~10%) na força concêntrica entre 0 e 24 h após o dano, no grupo controle. No entanto, é interessante notar que, nesse mesmo período, a força concêntrica, no

grupo chá mate, recuperou ~10%, assumindo valores significativamente maiores ($P = 0,005$), em comparação ao grupo controle, sugerindo, portanto, um efeito protetor, mediado pelo chá mate, contra um dano secundário (FAULKNER; BROOKS; OPITECK, 1993).

Os mecanismos exatos por meio dos quais a suplementação rica em fitoquímicos antioxidantes pode melhorar o perfil de marcadores do dano muscular após o exercício excêntrico são ainda desconhecidos. Portanto, alguns eventos do dano muscular excêntrico assim como propriedades do chá mate foram assumidos como bases racionais para se propor potenciais mecanismos envolvidos nos efeitos do chá mate nos marcadores do dano muscular observados nesta pesquisa. Não obstante, futuras pesquisas são necessárias a fim de que esses mecanismos possam ser diretamente investigados e esclarecidos.

6.5.1 Modulação de eventos inflamatórios/antioxidantes no músculo danificado

A ação fortuita de produtos do metabolismo de fagócitos ativados nas áreas teciduais intactas tem sido o mecanismo mais frequentemente proposto na literatura para justificar parte do retardo na recuperação na força muscular após o dano muscular excêntrico (ZERBA; KOMOROWSKI; FAULKNER, 1990; MacINTYRE et al., 1996; 2001; LAPOINTE; FRENETTE; CÔTÉ, 2001). Em conformidade a isso, a hipótese de que a melhora na recuperação da força muscular, promovida pela suplementação de alimentos ricos em fitoquímicos, estaria ligada a eventos inflamatórios/oxidativos, mediados por células imunológicas, é a que tem sido mais correntemente considerada (CONNOLLY et al., 2006; TROMBOLD et al., 2010; TANABE et al., 2015). Portanto, é plausível sugerir que, durante o primeiro dia de recuperação, os constituintes bioativos do chá mate tenham favorecido a recuperação na função muscular, em parte, por meio da modulação de um cenário oxidante e/ou inflamatório (LANZETTI et al., 2008; SCHINELLA et al., 2014).

Relações temporais entre a infiltração muscular de leucócitos e as alterações na força muscular têm sido observadas após o exercício excêntrico (MacIntyre et al., 1996; 2000; 2001; PAULSEN et al., 2010). MacIntyre et al. (1996) relataram um padrão bimodal de redução na força muscular em 0 h e, novamente, em 20 h pós-esforço (300 ações musculares excêntricas máximas com os músculos extensores do joelho). O acúmulo de leucócitos no músculo ocorreu entre 2 e 24 h pós-esforço. Os autores ressaltaram que a segunda diminuição na força permaneceu de 20 a 24 h após o exercício, período em que houve maior

concentração de leucócitos no músculo. Embora as associações entre a infiltração de células imunológicas e a redução na força muscular após o dano muscular excêntrico pareçam refletir, principalmente, o grau de dano muscular e a necessidade de regeneração (PAULSEN et al., 2010), um estudo envolvendo alongamento *in situ*, forneceu evidências de que a redução na produção de espécies reativas por neutrófilos provindos do sangue atenuou o agravamento de danos estruturais miofibrilares observados 24 h após o dano muscular excêntrico (BRICKSON et al., 2003).

Em conjunto, os resultados desses estudos despertam a ideia de que os benefícios do chá mate na recuperação da força muscular, particularmente, entre 0 e 24 h após o dano, poderiam, em parte, estar relacionados à atenuação de danos miofibrilares adicionais (BRICKSON et al., 2003; CONNOLY et al., 2006) associados à atividade inflamatória de neutrófilos e macrófagos (LANZETTI et al., 2008; TIDBALL; VILLALTA, 2010; SCHINELLA et al., 2014). Neste contexto, portanto, existe a possibilidade de que os benefícios do chá mate tenham envolvido uma miríade de mecanismos, incluindo a diminuição na infiltração de fagócitos (LANZETTI et al., 2008; SCHINELLA et al., 2014); a neutralização de ERO/ERNs (SCHINELLA et al., 2000; LEONARD et al., 2010); e a regulação na produção de mediadores inflamatórios, como IL-1 β , TNF- α e \bullet NO, por essas células, por meio da modulação do NF- κ B (LANZETTI et al., 2008; PUANGPRAPHANT; DE MEJIA, 2009; BORGES et al., 2013; SCHINELLA et al., 2014).

A IL-1 β e o TNF- α , por exemplo, podem induzir o acúmulo de neutrófilos e monócitos/macrófagos no sítio inflamatório, bem como ativar essas células diretamente e/ou potencializar suas respostas a um estímulo ativador, e, desse modo, contribuir para a amplificação da inflamação (para revisão: CURFS; MEIS; HOOGKAMP-KORTANJE, 1997; CAVAILLON, 1994). No grupo controle, mas não no grupo chá mate, a concentração de IL-1 β variou significativamente (28%; $P < 0,050$) entre o PRÉ e 24 h pós-dano (Apêndice H45). Além disso, neste grupo, embora não tenha havido alteração significativa na concentração sérica de TNF- α até 72 h, vale lembrar que a variação na concentração sérica de TNF- α no período PRÉ-24 h foi inversamente associado com a recuperação da força isométrica nos intervalos PRÉ-0 h ($r = -0,54$; $P = 0,022$) e 0-24 h ($r = -0,53$; $P = 0,024$) pós-dano (Quadro 3). Por outro lado, no grupo chá mate, as concentrações séricas de IL-1 β e TNF- α mantiveram-se inalteradas ao longo do tempo e não foram

significativamente associadas com a força muscular, especificamente, entre o PRÉ e 24 h pós-dano, período em que a força isométrica foi recuperada significativamente. Além disso, o tamanho do efeito do chá mate na concentração sérica de TNF- α foi grande ($d = -0,80$), no PRÉ-, e médio ($d = -0,62$), em 24 h pós-dano. Diante desses resultados, especula-se que nos indivíduos que consumiram chá mate, as modulações, em conjunto, na produção muscular de IL-1 β e de TNF- α , possivelmente via modulação do NF- κ B, tenham contribuído para uma menor infiltração e/ou estado de ativação de neutrófilos e de monócitos (LANZETTI et al., 2008; BORGES et al., 2013; SCHINELLA et al., 2014) no músculo, ao longo das primeiras 24 h após o dano muscular excêntrico (MacINTYRE et al., 1996; PAULSEN et al., 2010). Deste modo, o chá mate poderia ter atenuado uma possível ocorrência de danos miofibrilares adicionais, associados à atividade dessas células durante esse período (BRICKSON et al., 2003), e, assim, contribuído para uma mais rápida recuperação da força muscular 24 h após o dano muscular excêntrico.

Embora a produção de \bullet NO muscular não tenha sido medida no presente estudo, importa destacar que o chá mate/erva mate pode tanto atenuar a produção de \bullet NO por fagócitos ativados (BORGES et al., 2013), como, por outro lado, favorecer a biodisponibilidade do \bullet NO, prevenindo sua reação com o radical superóxido (SCHINELLA et al., 2000; 2005). Essas ações paradoxais do chá mate podem ter contribuído para um equilíbrio na concentração de \bullet NO, necessário para os processos de *clearance* tecidual, mediado por fagócitos, bem como o início de degradação de proteínas danificadas (SAKURAI et al., 2001), ao longo do primeiro dia de recuperação, o que pode ter favorecido a recuperação na força muscular nesse período.

O \bullet NO pode desempenhar importantes ações anti-inflamatórias, como, por exemplo, diminuir a migração de neutrófilos para o músculo inflamado (AKIMITSU; GUTE; KORTHUIS, 1995; DAL SECCO et al., 2004) e inibir a expressão de moléculas de adesão em neutrófilos (SATO et al., 1999) e em células endoteliais (KOSONEN et al., 2000). Há também evidências de que o \bullet NO modula a expressão e a atividade da calpaína no músculo (MICHETTI et al., 1995; LOMONOSOVA et al., 2014), o que parece limitar a ação proteolítica da enzima no citoesqueleto assim como a ocorrência de danos secundários após o exercício excêntrico (LOMONOSOVA et al., 2014). Índícios de atividade da calpaína no músculo já podem ser observados 4 h após o exercício excêntrico (BEATON; TARNOPOLSKY; PHILLIPS, 2002),

sendo significativamente importantes em 24 h pós-esforço (LOMONOSOVA et al., 2014). Por outro lado, elevadas concentrações de NO[•] no músculo podem resultar em modificações oxidativas mediadas por peroxinitrito, em proteínas musculares, incluindo o receptor RyR1 e o aparato contrátil (LIMA-CABELLO et al., 2010; YAMADA et al., 2015). Lima-Cabello et al. (2010) observaram evidências de proteínas nitradas no músculo em associação ao aumento na expressão de nNOS, iNOS e eNOS imediatamente após o exercício excêntrico. A ação danosa de ERNs em proteínas contráteis poderia contribuir para a fraqueza muscular (YAMADA et al., 2015). Portanto, no presente estudo, é possível que a inibição, mediada pelo chá mate, dos efeitos citotóxicos do peroxinitrito em proteínas (BIXBY et al., 2005) tenha também contribuído na atenuação de danos secundários e, assim, no déficit na força muscular.

6.5.2 Modulações de eventos ligados a uma possível falha na ativação de receptores RyR1s

Considera-se que uma ruptura no processo de acoplamento E-C poderia explicar $\geq 75\%$ do déficit na força muscular durante os três primeiros dias após o dano muscular excêntrico (WARREN et al., 2001). Em conformidade a essa ideia, reduções no conteúdo muscular de FKBP12, JP1 e JP2 (i.e. proteínas auxiliares do receptor RyR1) foram observadas entre 0 a 3 dias após ações musculares de alongamento *in situ*, e essas alterações se correlacionaram com o déficit na força muscular isométrica durante o mesmo período (CORONA et al., 2010; BAUMANN et al., 2014). A depleção no conteúdo muscular das proteínas FKBP12, JP1 e JP2 induzida pelo exercício excêntrico tem sido atribuída a, por exemplo, hiperfosforilações, via PKA, e/ou à hipernitrosilação, via [•]NO, no RyR1 ou de algumas dessas proteínas acessórias (INGALLS et al., 2004; CORONA et al., 2010; BAUMANN et al., 2014). A depleção de FKBP12 na fibra muscular resultaria na elevação na concentração de repouso de Ca²⁺ mioplasmático (devido ao "leaky channel") e em prejuízos na liberação de Ca²⁺ do retículo sarcoplasmático e na contração induzida por despolarização (LAMB; STEPHENSON, 1996; AVILA et al., 2003; BELLINGER et al., 2008; BAUMANN et al., 2014). A elevação na concentração de repouso Ca²⁺ no mioplasma, relacionada à depleção muscular de FKBP12 — cuja função é estabilizar o estado fechado do canal (BRILLANTES et al., 1994) —, poderia levar à ativação de proteases neutras dependentes de Ca²⁺ que poderiam causar dano muscular (BELLINGER et al., 2008).

Embora a concentração muscular de proteínas relacionadas ao RyR1 não tenha sido investigada no presente estudo, especula-se quanto à possível influência do chá mate na extensão das modificações por fosforilação e/ou nitrosilação, que podem ter ocorrido no RYR1, em associação ao exercício excêntrico (BELLINGER et al., 2008; CORONA et al., 2010; BAUMANN et al., 2014). Por exemplo, uma suposta ação modulatória dos ácidos ursólico e oleanólico (núcleos triterpênicos das saponinas do mate), fornecidos pelo chá mate, na atividade da PKA (WANG; POLYA, 1996) no RyR1 (MARX et al., 2001; REIKEN et al., 2003) poderia ter contribuído para diminuir o estado de hiperfosforilação do receptor (REIKEN et al., 2003; BELLINGER et al., 2008). Similarmente, estudos com extrato de romã ou de frutas vermelhas sugeriram significativa inibição da PKA mediada por antocianinas (MOSKAUG et al., 2008). Essas evidências poderiam em parte explicar os benefícios na recuperação na força muscular isométrica proporcionados pela suplementação de suco de romã ou de cereja, observados por Trombold et al. (2010; 2011) e Connolly et al. (2006), respectivamente.

Outra proposta seria a de que uma possível produção elevada de \bullet NO, necessária para as hipernitrosilações de grupos tióis no RyR1 após o exercício (BELLINGER et al., 2008; BAUNMANN et al., 2014), tenha sido atenuada pelo chá mate, por meio da modulação na expressão muscular de isoformas da NOS pela via NF- κ B. O efeito do chá mate/erva mate na diminuição da expressão da iNOS e da síntese de \bullet NO por meio da modulação da via NF- κ B foi demonstrado em condições em que a expressão/atividade da iNOS é geralmente elevada (i. e., inflamação) (PUANGPRAPHANT; DE MEJIA, 2009; ARÇARI et al., 2011; BORGES et al., 2013). No estudo de Lima-Cabello (2010) mencionado anteriormente, os autores observaram aumentos significativos na expressão (de RNAm e da proteína) de nNOS, iNOS e eNOS associados à ativação do NF- κ B, após o exercício excêntrico.

Propõe-se ainda que a melhora no padrão de recuperação na força muscular, nos indivíduos que consumiram chá mate, tenha sido em parte relacionada à modulação no potencial redox produzido por glutatona, no lado citosólico de RyR1s do retículo sarcoplasmático, o que poderia ter influenciado na atividade desses receptores (ZABLE; FAVERO; ABRAMSON, 1997; FENG et al., 2000) após o dano muscular. Essa ideia apoia-se essencialmente nas evidências de que a atividade do RyR1 pode ser modulada por GSH (SUN et al. 2003; ARACENA et al., 2005), possivelmente, em concentrações fisiologicamente controladas

(ZABLE; FAVERO; ABRAMSON, 1997). Neste sentido, é importante salientar que o efeito inibitório de GSH na probabilidade de abertura de canais de Ca^{2+} parece ser reversível e não altera a condutância unitária (ZABLE; FAVERO; ABRAMSON, 1997), o que significa que a permeabilidade normal do canal ao íon não é afetada (ROUSSEAU; SMITH; MEISSNER, 1987).

Diante disso, especula-se que, no grupo chá mate, uma concentração ótima de GSH muscular anteriormente ao dano, favorecida pela elevada concentração sanguínea de GSH (JI; FU, 1992; LEEUWENBURGH; JI, 1995), poderia ter modulado transitoriamente (i.e., 0-24 h pós-dano) a atividade de receptores RyR1s no retículo sarcoplasmático. Essa suposta modulação em RyR1s poderia ter contribuído para atenuar uma provável elevação na concentração de repouso de Ca^{2+} intracelular associada, por exemplo, à depleção muscular da proteína FKBP12 induzida pelo exercício excêntrico (INGALS et al., 2004; BAUMANN et al., 2014). O aumento na concentração de repouso de Ca^{2+} no mioplasma poderia ter prejudicado a liberação de Ca^{2+} induzida por despolarização e, conseqüentemente, contribuído no comprometimento da produção de força muscular (LAMB; STEPHENSON, 1996; AVILA et al., 2003).

6.5.3 Efeito ergogênico da cafeína

Caberia, por fim, a especulação de possível efeito ergogênico mediado pela cafeína presente no chá mate que foi consumido pelos participantes do estudo. Existem evidências de que a suplementação de 201 mg cafeína (~2,1—2,4 mg/kg), 1 h antes de exercício resistido em supino reto, melhorou a força muscular de uma repetição máxima (1RM) de membros superiores (BECK et al., 2006). Destaca-se que, nesse estudo, 20% da cafeína da suplementação foram fornecidos por meio da erva mate. Na presente pesquisa, durante o período de consumo de chá mate, os indivíduos ingeriram, via suplementação e dieta, 61—65 mg de cafeína por dia (0,9—1,3 mg/kg/dia), ou seja, aproximadamente, metade da dose ofertada no estudo de Beck et al. (2006). Além disso, importa salientar que não foram observadas diferenças significativas entre os valores do pico de torque isométrico medidos no tempo basal e no pré-dano muscular excêntrico (PRÉ), nos grupos chá mate e controle. Ou seja, o consumo de 600 mL/dia de chá mate (51,3 mg de cafeína, em média), por 7—10 dias, e uma dose de 200 mL de chá mate (17,1 mg de cafeína), imediatamente antes do teste de força muscular, não influenciou a força isométrica máxima. Por outro lado, não se pode descartar totalmente a hipótese de que o consumo

agudo de chá mate, contendo uma pequena dose de cafeína (i.e., 17 mg), imediatamente antes do teste de força realizado 24 h após o dano muscular, possa ter favorecido a performance muscular, diferentemente do ocorrido na condição sem o dano muscular excêntrico.

6.5.4 Proteção antioxidante e/ou melhora na estabilidade da membrana plasmática

É provável que o vazamento da enzima aldolase — e, possivelmente de outras proteínas citosólicas — para a circulação, neste estudo, tenha, inicialmente, sido o resultado de um aumento na permeabilidade da membrana celular devido a danos estruturais no sarcolema mecanicamente induzidos pelo dano muscular excêntrico (ARMSTRONG, 1990; McNEIL; KHAKKEE, 1990). O rompimento na barreira celular pode ter contribuído para um possível desequilíbrio na homeostase do Ca^{2+} intracelular e a consequente ativação de enzimas dependentes de Ca^{2+} , cujas atividades estão associadas à produção de espécies reativas e/ou de fatores inflamatórios (ARMSTRONG, 1990; ARMSTRONG; WARREN; WARREN, 1991). A ativação da PLA_2 , por exemplo, pode ter resultado na ação oxidativa da LOX sobre o ácido araquidônico, levando à formação de hidroperóxidos lipídicos que poderiam ter agravado o prejuízo na membrana (JACKSON; WAGENMAKERS; EDWARDS, 1987; DUCAN; JACKSON, 1987). Além disto, neutrófilos ativados teriam induzido a membrana à lise, por meio de mecanismos dependentes de $\text{O}_2^{\bullet-}$ (NGUYEN; TIDBALL, 2003c), durante a invasão na fibra ao longo de 24 h após o dano inicial (TIDBALL; BERCHENKO; FRENETTE, 1999; TIDBALL; VILALLTA; 2010). Concordando, talvez, com essa hipótese, Cannon et al. (1990) observaram forte associação positiva ($r = 0,75$; $P < 0,001$) entre a atividade máxima da creatina quinase no plasma e a liberação de $\text{O}_2^{\bullet-}$ por neutrófilos, 24 h após o exercício excêntrico (corrida em declive) (CANNON et al., 1990).

No presente estudo, a atividade sérica da aldolase incrementou significativamente em 24 h em relação ao pré-dano (12,4%; $P < 0,050$), no grupo controle, e, neste grupo, uma associação inversa ($r = -0,59$; $P = 0,009$) ocorreu, durante o mesmo período (i.e., Pré-24 h), entre as variações na atividade da enzima e na concentração de granulócitos no sangue (Quadro 6). Propôs-se que a diminuição no número de fagócitos no sangue poderia indicar aumento na marginação dessas células no endotélio vascular, seguida de extravasamento no sítio inflamatório (GLEESON et al., 1995). Portanto, é possível que, no presente estudo,

ao longo de 24 h após o dano muscular inicial — período de maior migração de neutrófilos circulantes para a fibra (TIDBALL; VILALLTA; 2010) —, EROs liberadas por fagócitos possam ter oxidado fosfolípidos da membrana e, deste modo, contribuído para o vazamento de proteínas citosólicas (CANNON et al., 1990; GIROTTI, 1998; NGUYEN; TIDBALL, 2003c). Contudo, não se pode desconsiderar que eventos dependentes de $\bullet\text{NO}$ produzido por macrófagos M1 possam ter contribuído com a lise da membrana (NGUYEN; TIDBALL, 2003a; 2003b).

Nesse contexto, possíveis ações protetoras de compostos bioativos do chá mate podem ter atenuado a ocorrência de danos secundários no sarcolema, explicando, em parte, a ausência de variação significativa na atividade sérica da enzima entre o PRÉ e 24 h pós-dano. Por exemplo, potentes ações antioxidantes dos ácidos clorogênicos, ursólico e oleanólico distribuídos na bicamada lipídica (OVESNÁ; KOZICS; SLAMENOVÁ; 2006; BONARSKA-KUJAWA; CYBORAN-MIKOŁAJCZYK; KLESZCZYNSKA, 2015), podem tê-la protegido eficientemente contra a ação deletéria de EROs/ERNs, prevenindo a lise da membrana (NGUYEN; TIDBALL, 2003; PERALTA et al., 2013). Recentemente, foi demonstrado que o extrato de erva mate protegeu eritrócitos contra a lise mediada por H_2O_2 , por meio de uma ação similar à da enzima antioxidante catalase (PERALTA et al., 2013). O chá mate pode também ter modulado a expressão da iNOS e a produção de $\bullet\text{NO}$ por macrófagos ativados (BORGES et al., 2013; SCHINELLA et al., 2014). Além disto, interações entre o ácido ursólico e ácido oleanólico com a membrana celular talvez possam ter favorecido a estabilidade na bicamada lipídica (HAN et al., 1997) e, deste modo, contribuído para minimizar o aumento na permeabilidade da membrana celular (CANNON et al., 1990). Existe, ainda, a possibilidade de que os compostos antioxidantes do chá mate tenham modulado a oxidação de ácidos graxos mediada pela LOX, atenuando, assim, a formação de hidroperóxidos lipídicos (BRACESCO et al., 2003), e, consequentemente, a formação de cadeias de lipoperoxidação (XU; HU; LIU, 2012) na membrana da fibra muscular.

Por fim, é razoável pensar que, após 24 h do dano muscular, o efeito do chá mate no efluxo da aldolase, devido à melhora na permeabilidade no sarcolema, tenha sido sobrepujado pela necrose de fibras mortas (JONES et al., 1986; PAULSEN et al., 2005), que teria incrementado significativamente a concentração sérica de proteínas intracelulares.

7 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O consumo de chá mate (200 mL, 3 vezes por dia, por 11 dias) acelerou a recuperação das variáveis das ações musculares isométrica e concêntrica de membros superiores durante o primeiro dia após o dano muscular excêntrico. Em conformidade a isso, em 24 h após o dano, o chá mate atenuou a elevação na atividade sérica da aldolase. Entretanto, a elevação na atividade da creatina quinase em 72 h não foi influenciada pela suplementação. Assim, esses resultados sugerem que a modulação, mediada pelo chá mate, de eventos musculares associados ao dano muscular excêntrico ocorreu principalmente ao longo das primeiras 24 h. Ter uma recuperação mais rápida na força muscular no primeiro dia após o dano muscular excêntrico pode ser particularmente importante para indivíduos que necessitam realizar exercícios e/ou atividades ocupacionais subsequentes que irão envolver os músculos afetados.
- O chá mate diminuiu os valores da aldolase no soro antes do dano, sugerindo efeito protetor de membrana celular, independentemente do dano muscular excêntrico.
- Após o dano, o consumo de chá mate aumentou, em comparação ao controle, a concentração de compostos fenólicos totais no plasma antes e em 24 e 72 h bem como os valores de GSH no sangue antes em 48 e 72 h. Além disso, o chá mate atenuou a diminuição na concentração de compostos fenólicos totais e preveniu o decréscimo na concentração de GSH em 72 h. A concentração de GSSG no sangue não foi afetada pelo dano muscular ou pelo chá mate, entretanto, o tamanho do efeito do chá mate na razão GSH/GSSG foi médio antes e em 24 e 72 h. Portanto, o chá mate contribuiu para otimizar a concentração de antioxidantes exógenos e endógenos circulantes e melhorar o potencial redox sanguíneo antes e após o dano muscular excêntrico.
- A concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma não foi alterada pelo dano muscular ou pelo chá mate. No entanto, o chá mate preveniu a elevação na concentração plasmática de carbonilas protéicas em 72 h, em conformidade com as melhores respostas de compostos fenólicos e de GSH promovidas pelo chá mate, nesse período de tempo.
- O número de leucócitos totais, de granulócitos, de monócitos e de linfócitos não foi modificado significativamente pelo dano muscular ou pelo chá mate.

- O consumo de chá mate preveniu a elevação na concentração de IL-1 β no soro em 24 h após o dano muscular. Além disso, o chá mate diminuiu a concentração de TNF- α em 24 h e de IL-6 em de 24 a 48 h. O tamanho do efeito do chá mate nas concentrações pré-dano de TNF e IL-6 foi grande e médio, respectivamente. O dano muscular não afetou a concentração sérica de PCR, porém, o chá mate, atenuou os valores da PCR em 72 h, em relação ao PRÉ. Portanto, o consumo de chá mate proporcionou efeitos anti-inflamatórios em seres humanos em condições basais e em situação de dano muscular excêntrico.
- O dano muscular excêntrico ou o chá mate não influenciaram a expressão da subunidade da integrina β 2, CD11b, em neutrófilos.
- A expressão da subunidade da NADPH oxidase, p47^{phox}, em neutrófilos não foi modificada após o dano muscular, independentemente do tratamento com chá mate ou controle. Entretanto, o chá mate teve tamanho do efeito médio na expressão da p47^{phox} em neutrófilos antes do dano, diminuindo significativamente os valores da proteína. Assim, o consumo de chá mate diminuiu, em condições basais, a expressão de proteína envolvida com a produção de espécies reativas em neutrófilos na circulação.
- O perfil alimentar dos participantes foi inadequado quanto à ingestão de energia de algumas vitaminas antioxidantes e alimentos fontes de fitoquímicos, o que reforça a necessidade de reeducação alimentar em populações fisicamente ativas.
- Destacam-se como limitações do estudo o pequeno tamanho da amostra; o tipo de amostra, composta por indivíduos adultos jovens, do sexo masculino e fisicamente ativos, não engajados em treinamento contrarresistência; e os consumos usual e atual inadequados de fontes dietéticas de antioxidantes pelos participantes, o que pode ter superestimado os benefícios do chá mate observados. Além disso, a ausência de um tratamento placebo pode ter influenciado os resultados, principalmente, em relação à força muscular máxima, que possui um importante componente voluntário. Porém, não existe disponível material inerte apropriado, compatível em cor e sabor ao chá mate liofilizado.

Portanto, conclui-se que o chá mate influenciou favoravelmente as respostas ao dano muscular excêntrico de marcadores funcionais e bioquímicos do dano muscular, do estresse oxidativo e da inflamação.

Além disso, independentemente do dano muscular excêntrico, o chá mate melhorou o perfil sistêmico de antioxidantes, dietéticos e endógenos, e de mediadores inflamatórios e modulou a expressão de proteína em neutrófilos sanguíneos. Sugere-se que estudos futuros possam corroborar nossos resultados em outras populações (i.e. atletas, idosos, crianças e adolescentes) assim como investigar potenciais mecanismos moleculares envolvidos aos efeitos do chá mate na recuperação da função muscular após dano muscular excêntrico.

8 REFERÊNCIAS

AKIMITSU, T.; GUTE, D. C.; KORTHUIS, R. J. Leukocyte adhesion induced by inhibition of nitric oxide production in skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v. 78, n. 5, p. 1725-1732, 1995.

ALESSIO, H. M. et al.. Consumption of green tea protects rats from exercise-induced oxidative stress in kidney and liver. **Nutr. Res.**, v. 22, n. 22, p. 1177-1188, 2002.

ALKHATIB, A. Yerba Maté (*Ilex Paraguariensis*) ingestion augments fat oxidation and energy expenditure during exercise at various submaximal intensities. **Nutr Metab**, v. 11, p.42, 2014.

ALLEN, D. G. Eccentric muscle damage: mechanisms of early reduction of force. **Acta Physiol Scand**, v. 171, n. 3, p. 311-319, 2001.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Position of the American Dietetic Association: phytochemicals and functional foods. **J Am Diet Assoc**, v. 95, n. 4, p. 493-496, 1995.

AMES, B. N. et al.. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 78, n. 1, p. 6858-6862, 1981.

ANDERSON, D. C.; SPRINGER, T. A. Leukocyte adhesion deficiency: an inherited defect in the Mac-1, LFA-1, and p150,95 glycoproteins. **Annu Rev Med**, v. 38, p. 175-194, 1987.

ANDERSON, E. J.; NEUFER, P. D. Type II skeletal myofibers possess unique properties that potentiate mitochondrial H₂O₂ generation. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 290, n. 3, p. 844-841, 2006.

ANDERSON, J. E. A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells. *Mol Biol Cell*, v. 11, n. 5, p. 1859-1874, 2000.

ANRATHER, J.; RACCHUMI, G.; IADECOLA, C. NF-kappaB regulates phagocytic NADPH oxidase by inducing the expression of gp91phox. **J Biol Chem**, v. 281, n. 9, p. 5657-5667, 2006.

AOI, W. et al.. Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. **Free Rad Bio Med**, v. 37, n. 4, p. 480-487, 2004.

ARACENA, P. et al.. Effects of S-glutathionylation and S-nitrosylation on calmodulin binding to triads and FKBP12 binding to type 1 calcium release channels. **Antioxid Redox Signal**, v. 7, n. 7-8, p. 870-881, 2005.

ARACENA, P. et al.. S-glutathionylation decreases Mg²⁺ inhibition and S-nitrosylation enhances Ca²⁺ activation of RyR1 channels. **J Biol Chem**, v. 278, n. 44, p. 42927-42935, 2003.

ARÇARI, D. P. et al.. Anti-inflammatory effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) ameliorate insulin resistance in mice with high fat diet-induced obesity. **Mol Cell Endocrinol**, v. 335, n. 2, p. 110-115, 2011.

ARGÜELLES, S. et al.. Do the serum oxidative stress biomarkers provide a reasonable index of the general oxidative stress status? **Biochem Biophys Acta**, v. 1674, n. 3, p. 251-259, 2004.

ARMSTRONG, R. B. et al.. Elevations in rat soleus muscle [Ca²⁺] with passive stretch. **J Appl Physiol**, v. 74, n. 6, p. 2990-2997, 1993.

ARMSTRONG, R. B. Initial events in exercise-induced muscular injury. **Med Sci Sports Exerc**, v. 22, n. 4, p. 429-435, 1990.

ARMSTRONG, R. B.; WARREN, G. L.; WARREN, J. A. Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury. **Sports Med**, v. 12, n. 3, p. 184-207, 1991.

ARNOLD, H.; PETTE, D. Binding of glycolytic enzymes to structure proteins of the muscle. **Eur J Biochem**, v. 6, n. 2, p. 163-171, 1968.

ARNOLD, L. et al.. Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. **J Exp Med**, v. 204, n. 5, v. 1057-1069, 2007.

ASAKA, M.; ALPERT, E. Subunit-specific radioimmunoassay for aldolase A, B, and C subunits: clinical significance. **Ann N Y Acad Sci**, v. 417, p. 359-367, 1983.

AVILA, G. et al.. FKBP12 binding to RyR1 modulates excitation-contraction coupling in mouse skeletal myotubes. **J Biol Chem**, v. 278, n. 25, p. 22600-22608, 2003.

BAINTON, D. F. Sequential degranulation of the two types of polymorphonuclear leukocyte granules during phagocytosis of microorganisms. **J Cell Biol**, v. 58, n. 2, p. 249-264, 1973.

BALOG, E. M. Excitation-contraction coupling and minor triadic proteins in low-frequency fatigue. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 38, n. 3, p. 135-142, 2010.

BÁNHEGYI, G. et al.. Evidence for the transport of glutathione through ryanodine receptor channel type 1. **J Biochem**, v. 376, n. 3, p. 807-812, 2003.

BANNER, D. W. et al.. Crystal structure of the soluble human 55 kd TNF receptor-human TNF beta complex: implications for TNF receptor activation. **Cell**, v. 73, n. 3, p. 431-445, 1993.

BARANANO, D. E. et al.. Biliverdin reductase: a major physiologic cytoprotectant. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 99, n. 25, p. 16093-16098, 2002.

BARONE, V. et al.. Organization of junctional sarcoplasmic reticulum proteins in skeletal muscle fibers. **J Muscle Res Cell Motil**, 2015. No prelo.

BASTOS, D. H. et al.. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 423-432, 2007b.

BASTOS, D. H. et al.. The Chlorogenic Acid and Caffeine Content of Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) (*Ilex paraguariensis*) beverages. **Acta Farm Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 91-95, 2005.

BASTOS, D.H., et al., 2007. Yerba mate: pharmacological properties, research and biotechnology. **Med Arom Plant Sci Biotech**, v. 1, n.1, 37-46, 2007a.

BAUMANN, C. W. et al.. Eccentric contractions disrupt FKBP12 content in mouse skeletal muscle. **Physiol Rep**, v. 2, n. 7, p. 12081, 2014.

BEATON, L. J. et al.. Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 5, p. 798-805, 2002.

BEATON, L. J.; TARNOPOLSKY, M. A.; PHILLIPS, S. M. Contraction-induced muscle damage in humans following calcium channel blocker administration. **J Physiol**, v. 544, n. 3, p. 849-859, 2002.

BECK, T. W. et al.. The acute effects of a caffeine-containing supplement on strength, muscular endurance, and anaerobic capabilities. **J Strength Cond Res**, v. 20, n. 3, p. 506-510, 2006.

BEDARD, K., KRAUSE, K. H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. **Physiol Rev**, v. 87, n. 1, p. 245-313, 2007.

BELCASTRO, A. N.; SHEWCHUK, L. D.; RAJ, D. A. Exercise-induced muscle injury: a calpain hypothesis. **Mol Cell Biochem**, v. 179, n. 1-2, p. 135-145, 1998.

BELLINGER, A. M, et al.. Hypernitrosylated ryanodine receptor calcium release channels are leaky in dystrophic muscle. **Nat Med**, v. 15, n. 3, p. 325-30, 2009.

BELLINGER, A. M, et al.. Remodeling of ryanodine receptor complex causes "leaky" channels: a molecular mechanism for decreased exercise capacity. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 6, p. 2198-2202, 2008.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Anal Biochem**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BERENDJI-GRÜN, D.; KOLB-BACHOFEN, V.; KRÖNCKE, K. D. Nitric oxide inhibits endothelial IL-1[β]-induced ICAM-1 gene expression at the transcriptional level decreasing Sp1 and AP-1 activity. **Mol Med**, v. 7, n.11, p. 748-754, 2001.

BIXBY, M.; SPIELER, L.; MENINI, T. et al.. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: a comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life Sci**, v. 77, n. 3, p. 345-358, 2005.

BJERREGAARD, M. D. et al.. The in vivo profile of transcription factors during neutrophil differentiation in human bone marrow. **Blood**, v. 101, n. 11, p. 4322-4332, 2003.

BLACK, S.; KUSHNER, I.; SAMOLS, D. C-reactive Protein. **J Biol Chem**, v. 279, n. 47, p. 48487-48490, 2004.

BOAVENTURA, B. C. B. et al.. Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. **Nutrition**, v. 28, n. 6, p. 657-664, 2012.

BORGES, M. C. et al.. The effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on metabolic and inflammatory parameters in high-fat diet-fed Wistar rats. **Int J Food Sci Nutr**, v. 64, n. 5, p. 561-569, 2013.

BORREGAARD, N. et al.. Subcellular localization of the b-cytochrome component of the human neutrophil microbicidal oxidase: translocation during activation. **J Cell Biol**, v. 97, n. 1, p. 52-61, 1983.

BORREGAARD, N.; COWLAND, J. B. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. **Blood**, v. 89, n. 10, p. 3503-3521, 1997.

BRACESCO, N. et al.. Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *Ilex paraguariensis*: prevention of DNA double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae* and human low-density lipoprotein oxidation. **J Altern Complement Med**, v. 9, n. 3, p. 379-387, 2003.

BRACESCO, N. et al.. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **J Ethnopharmacol**, v. 136, n. 3, p. 378-384, 2011.

BRANCACCIO, P. et al.. Serum enzyme monitoring in sports medicine. **Clin Sports Med**, v. 27, n.1, p.1-18, 2008.

BRANCACCIO, P.; LIPPI, G.; MAFFULLI, N. Biochemical markers of muscular damage. **Clin Chem Lab Med**, v. 48, n. 6, p. 757-767, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução. n.º 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 03 mai. 1999. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ca7d80004745973a9f84df3fbc4c6735/rdc_19.pdf?MOD=AJPERES

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n.º 466, de 12 de dezembro de 2012. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 13 jun. 2013. Seção 1, p. 59. Disponível em: http://www.fmt.am.gov.br/layout2011/denpe/cep/Alteracoes2013/Arqui vo%2014_Res%20CNS%20466_2012.pdf. Acesso em: 07 dez. 2015.

BRETZ, U.; BAGGIOLINI, M. Biochemical and morphological characterization of azurophil and specific granules of human neutrophilic polymorphonuclear leukocytes. **J Cell Biol**, v. 63, n. 1, p. 251-269, 1974.

BRICKSON, S. et al.. M1/70 attenuates blood-borne neutrophil oxidants, activation, and myofiber damage following stretch injury. **J Appl Physiol**, v. 95, n. 3, p. 969-976, 2003.

BRILLANTES, A. B. et al.. Stabilization of calcium release channel (ryanodine receptor) function by FK506-binding protein. **Cell**, v. 77, n. 4, p. 513-523, 1994.

BROWN, G. E.; REED, E. B.; LANSER, M. E. Neutrophil CR3 expression and specific granule exocytosis are controlled by different signal transduction pathways. **J Immunol**, v. 147, n. 3, p. 965-971, 1991.

BRUNSGAARD, H. et al.. Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage. **J Physiol**, v. 499, n. 3, p. 833-841, 1997.

BRYER, S. C.; GOLDFARB, A. H. Effect of high dose vitamin C supplementation on muscle soreness, damage, function, and oxidative stress to eccentric exercise. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 16, n. 4, p. 270-280, 2006.

BUFORD, T. W. et al.. Effects of eccentric treadmill exercise on inflammatory gene expression in human skeletal muscle. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 34, n. 4, p. 745-753, 2009.

BURKITT, M. J.; DUNCAN, J. Effects of trans-resveratrol on copper-dependent hydroxyl-radical formation and DNA damage: evidence for hydroxyl-radical scavenging and a novel, glutathione-sparing mechanism of action. **Arch Biochem Biophys**, v. 381, n. 2, p. 253-263, 2000.

BUTTERFIELD, T. A; BEST, T. M.; MERRICK, M. A. The dual roles of neutrophils and macrophages in inflammation: a critical balance between tissue damage and repair. **J Athl Train**, v. 41, n. 4, p. 457-465, 2006.

CAAMAÑO, J.; HUNTER, C. A. NF-kappaB family of transcription factors: central regulators of innate and adaptive immune functions. **Clin Microbiol Rev**, v. 15, n. 3, p. 414-429, 2002.

CALAFAT, J. et al.. Evidence for small intracellular vesicles in human blood phagocytes containing cytochrome b558 and the adhesion molecule CD11b/CD18. **Blood**, v. 81, n. 11, p. 3122-3129, 1993.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M.C.F. Teor de cafeína em cafés brasileiros. **Ciênc Tecnol Aliment** v. 18, n. 4, p. 421-424, 1998.
Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000400012&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em: 20 mai. 2015.
Acesso em: 12 jan. 2015.

CAMUS, G. et al.. Plasma levels of polymorphonuclear elastase and myeloperoxidase after uphill walking and downhill running at similar energy cost. **Int J Sports Med**. v. 13, n. 6, p. 443-446, 1992.

CANNON, J. G. Acute phase response in exercise. II. Associations between vitamin E, cytokines, and muscle proteolysis. **Am J Physiol**, v. 260, n.6, p.1235-1240, 1991.

CANNON, J. G. et al.. Acute response in exercise: interaction of age and vitamin E on neutrophils and muscle enzyme release. **Am J Physiol**, v. 259, n. 6, p. 1214-1219, 1990.

CANTONE, A.; CERRETELLI, P. The effect of muscular work on serum aldolase activity in trained and untrained man. **Int Z Angew Physiol**, v. 18, p.107-111, 1960.

CARMICHAEL, M. D et al.. Role of brain macrophages on IL-1beta and fatigue following eccentric exercise-induced muscle damage. **Brain Behav Immun**, v. 24, n. 4, p. 564-568, 2010.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Rep**, v. 100, p. 2, p. 126-31, 1985.

CASTILLA, P. et al.. Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients. **Am J Clin Nutr**, v. 87, n. 4, p.1053-1061, 2008.

CARNES, C. A., et al.. Atrial glutathione content, calcium current, and contractility. **J Biol Chem**, v. 282, n. 38, p. 28063-28073, 2007.

CAVAILLON, J. M. Cytokines and macrophages. **Biomed Pharmacother**, v. 48, v. 10, p. 445-453, 1994.

CHAMBERS, D. E. et al.. Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. **J Mol Cell Cardiol**, v. 17, n. 2, p. 145-152, 1985.

CHEUNG, K.; HUME, P.; MAXWELL, L. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. **Sports Med**, v. 33, n. 2, p. 145-164, 2003.

CHILD, R. et al.. Changes in indices of antioxidant status, lipid peroxidation and inflammation in human skeletal muscle after eccentric muscle actions. **Clin Sci**, v. 96, n. 1, p. 105-115, 1999.

CHILDS, A. et al.. Supplementation with vitamin C and N-acetylcysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. **Free Rad Biol Med**, v. 31, n. 6, p. 745-753, 2001.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal Biochem**, v.162, n.1, p.156-159, 1987.

CLARKE, F. M.; MASTERS, C. J. On the association of glycolytic enzymes with structural proteins of skeletal muscle. **Biochim Biophys Acta**, v. 381, n. 1, p. 37-46, 1975.

CLARKE, F. M.; MORTON, D. J. Aldolase binding to actin-containing filaments. Formation of paracrystals. **Biochem J**, v. 159, n. 3, p. 797-798, 1976.

CLOSE, G. L. Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. **Eur J Appl Physiol**, v. 91, n. 5-6, p. 615-621, 2004.

COELHO, G. C; ATHAYDE, M. L; SCHENKEL, E. P. Methylxanthines of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. var. *vestita* Loes. and var. *paraguariensis*. **Rev Bras Cienc Farm**, v. 37, n. 2, p. 153-158, 2001.

COHEN, G.; HOCHSTEIN, P. Glutathione peroxidase: the primary agent for the elimination of hydrogen peroxide in erythrocytes. **Biochemistry**, v. 2, p. 1420-1428, 1963.

COHEN, J. A power primer. **Psychol Bull**, v. 112, n.1, p.155-159, 1992.

CONDLIFFE, A. M. et al.. Priming differentially regulates neutrophil adhesion molecule expression/function. **Immunology**, v. 89, n. 1, p. 105-111, 1996.

CONNOLLY, D. A. et al.. Efficacy of a tart cherry juice blend in preventing the symptoms of muscle damage. **Br J Sports Med**, v. 40, n. 8, p. 679-683, 2006.

COOMBES, J. S. et al.. Effects of vitamin E deficiency on fatigue and muscle contractile properties. **Eur J Appl Physiol**, v. 87, n. 3, p. 272-277, 2002.

CORONA, B. T. et al.. Junctophilin damage contributes to early strength deficits and EC coupling failure after eccentric contractions. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 298, n. 2, p. 365-736, 2010.

COWLAND, J. B.; BORREGAARD, N. The individual regulation of granule protein mRNA levels during neutrophil maturation explains the heterogeneity of neutrophil granules. **J Leukoc Biol**, v. 66, n. 6, p. 989-995, 1999.

CRAMERI, R. M. et al.. Myofibre damage in human skeletal muscle: effects of electrical stimulation versus voluntary contraction. **J Physiol**, v. 583, n. 1, p. 365-380, 2007.

CROSS, A. R.; PARKINSON, J. F.; JONES, O. T. The superoxide-generating oxidase of leucocytes. NADPH-dependent reduction of flavin and cytochrome b in solubilized preparations. **Biochem J**, v. 223, n. 2, p. 337-344, 1984.

CURFS, J. H.; MEIS, J. F.; HOOGKAMP-KORTANJE, J. A. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. **Clin Microbiol Rev**, v. 10, n. 4, p. 742-80, 1997.

CZOP, J. K.; KADISH, J. L.; AUSTEN, K. F. Augmentation of human monocyte opsonin-independent phagocytosis by fragments of human plasma fibronectin. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 78, n. 6, p. 3649-3653, 1981.

DAL SECCO, D. et al.. Neutrophil migration in inflammation: nitric oxide inhibits rolling, adhesion and induces apoptosis. **Nitric Oxide**, v. 9, n. 3, p. 153-164, 2003.

DÁVALOS, A. et al.. Effects of red grape juice polyphenols in NADPH oxidase subunit expression in human neutrophils and mononuclear blood cells. **Br J Nutr**, v.102, n. 8, p. 1125-1135, 2009.

DAVIES, K. J. et al.. Uric acid-iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant functions of uric acid. **Biochem J**, v. 235, n. 3, p. 747-754, 1986.

DE WAAL MALEFYT, R. et al.. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. **J Exp Med**, v. 174, n. 5, p. 1209-1220, 1991.

DENG, B. et al.. IL-10 triggers changes in macrophage phenotype that promote muscle growth and regeneration. **J Immunol**, v. 189, n. 1, p. 3669-3680, 2012.

DINARELLO, C. A. Biologic basis for interleukin-1 in disease. **Blood**, v. 87, n. 6, p. 317-343, 1996.

DORADO, C. et al.. Marked effects of Pilates on the abdominal muscles: a longitudinal magnetic resonance imaging study. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 8, p. 1589-1584, 2012.

DUAN, C. et al.. Rat skeletal muscle mitochondrial [Ca²⁺] and injury from downhill walking. **J Appl Physiol**, v. 68, n. 3, p. 1241-1251, 1990.

DUCAN, C. J.; JACKSON, M. J. Different mechanisms mediate structural changes and intracellular enzyme efflux following damage to skeletal muscle. **J Cell Sci**, v. 87, n. 1, p. 183-188, 1987.

DUNLAP, W. et al.. Meta-analysis of experiments with matched groups or repeated measures designs. **Psychological Methods**, v. 1, n. 2, p. 170-177, 1996.

DUTKA, T. L. et al.. Modulation of contractile apparatus Ca²⁺ sensitivity and disruption of excitation-contraction coupling by S-nitrosoglutathione in rat muscle fibres. **J Physiol**, v. 589, n. 9, p. 2181-2196, 2011.

EBBELING, C. B.; CLARKSON, P. M. Muscle adaptation prior to recovery following eccentric exercise. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 60, n. 1, p. 26-31, 1990.

EBBEN, H. Strength and conditioning for stock car racing. **Strength Cond J**. v. 32, n. 5, p.16-27, 2010.

EDWARDS, J. P.; EMENS, L. A. The multikinase inhibitor sorafenib reverses the suppression of IL-12 and enhancement of IL-10 by PGE₂ in murine macrophages. **Int Immunopharmacol**, v. 10, n. 10, p. 1220-1228, 2010.

EU, J. P. et al.. Concerted regulation of skeletal muscle contractility by oxygen tension and endogenous nitric oxide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 100, n. 25, p. 15229-15234, 2003.

FAN, J. P.; HE, C. H. Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of *Diospyros kaki* by high performance liquid chromatography method. **J Pharm Biomed Anal**,v. 41, n. 3, p. 950-956, 2006.

FAULKNER, J.A.; BROOKS, S. V.; OPITECK, J.A. Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention. **Phys Ther**, v. 73, n. 12, p. 911-921, 1993.

FAURSCHOU, M.; BORREGAARD, N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. **Microbes Infect**, v. 5, n. 14, p. 1317-1327, 2003.

FENG, W. et al.. Transmembrane redox sensor of ryanodine receptor complex. **J Biol Chem**, v. 277, n. 46, p. 35902-35907, 2000.

FERNANDES, E. S et al.. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) enhances the gene modulation and activity of paraoxonase-2: in vitro and in vivo studies. **Nutrition**, v. 28, n. 11-12, p. 1157-64, 2012.

FERREIRA, L. F.; REID, M. B. Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. **J Appl Physiol**, v. 104, n. 3, p.853-860, 2008.

FIELDING, R. A. et al.. Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle. *Am J Physiol*. **Am J Physiol**, v. 265, n. 1, p.166-172, 1993.

FILIP, R. et al.. Phenolic compounds in seven South American Ilex species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p. 774-778, 2001.

FRATICELLI, A. et al.. Hydrogen peroxide and superoxide modulate leukocyte adhesion molecule expression and leukocyte endothelial adhesion. **Biochim Biophys Acta**, v. 1310, n. 3, p. 251-259, 1996.

FRIDÉN, J.; LIEBER, R. L. Serum creatine kinase level is a poor predictor of muscle function after injury. **Scand J Med Sci Sports**, v. 11, n. 2, p. 126-127, 2001.

FRIEDL, H. P. et al.. Mediator-induced activation of xanthine oxidase in endothelial cells. **FASEB J**, v. 3, n. 13, p. 2512-2518, 1989.

FUNES, L. et al.. Effect of lemon verbena supplementation on muscular damage markers, proinflammatory cytokines release and neutrophils' oxidative stress in chronic exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 4, p. 695-705, 2011.

GAHMBERG, C. G. et al.. Regulation of integrin activity and signalling. **Biochim Biophys Acta**, v. 1790, n. 6, p. 431-444, 2009.

GANTER, U. et al.. Dual control of C-reactive protein gene expression by interleukin-1 and interleukin-6. **EMBO J**, v. 8, n. 12, p. 3773-3779, 1989.

GAO, S. et al. Bioavailability challenges associated with development of saponins as therapeutic and chemopreventive agents. **Curr Drug Targets**, v. 13, n. 14, p. 1885-1899, 2012.

GARBER, C. E. et al.. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 7, p. 1334-1359, 2011.

GAUSS, K. A. et al.. Role of NF-kappaB in transcriptional regulation of the phagocyte NADPH oxidase by tumor necrosis factor-alpha. **J Leukoc Biol**, v. 82, n. 3, p. 729-741, 2007.

GAUTHIER, T. W.; DAVENPECK, K. L.; LEFER, A. M. Nitric oxide attenuates leukocyte-endothelial interaction via P-selectin in splanchnic ischemia-reperfusion. **Am J Physiol**, v. 267, n. 4, p. 562-568, 1994.

GHAFOURIFAR, P.; CADENAS, E. Mitochondrial nitric oxide synthase. **Trends Pharmacol Sci**, v. 26, n. 4, p. 190-195, 2005.

GERSHOV, D. et al.. C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. **J Exp Med**, v. 192, n. 9, 1353-1364, 2000.

GIROTTI, A. W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. **J Lip Res**, v. 39, n. 8, p. 1529-1542, 1998.

GISSEL, H. The role of Ca²⁺ in muscle cell damage. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1066, p. 166-180, 2005.

GIUSTARINI, D. et al.. Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. **Nat Protoc**, v. 8, n. 9, p. 1660-1669, 2013.

GNOATTO, S. C. B.; SCHENKEL, E. P.; BASSANI, V. L. HPLC method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **J Braz Chem Soc**, v. 16, n. 4, p. 723-726, 2005.

GOLDFARB, A. H. et al.. Effects of a fruit/berry/vegetable supplement on muscle function and oxidative stress. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 3, p. 501-508, 2011.

GOSMANN, G. et al.. Triterpenoid saponins from *Ilex paraguariensis*. **J Nat Prod**, v. 58, n. 3, p. 438-441, 1995.

GRANGE, R. W. et al. Nitric oxide contributes to vascular smooth muscle relaxation in contracting fast-twitch muscles. **Physiol Genomics**, v. 5, n. 1, p. 35-44, 2001.

GRIFFITH, O. W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. **Anal Biochem**, v. 106, n. 1, p. 207-212, 1980.

GROEMPING, Y.; RITTINGER, K. Activation and assembly of the NADPH oxidase: a structural perspective. **Biochem J**, v. 386, v. 3, p. 401-416, 2005.

GUNST, J. J. et al.. Serum creatine kinase activity is not a reliable marker for muscle damage in conditions associated with low extracellular glutathione concentration. **Clin Chem**, v. 44, n. 5, p. 939-943, 1998.

HACK, C. E. et al.. A role for secretory phospholipase A2 and C-reactive protein in the removal of injured cells. **Immunol Today**, v. 18, n. 3, p. 111-115, 1997.

HÄGER, M.; COWLAND, J. B.; BORREGAARD, N. Neutrophil granules in health and disease. **J Intern Med**, v. 268, n. 1, p. 25-34, 2010.

HAKKERT, B. C. et al.. Neutrophil and monocyte adherence to and migration across monolayers of cytokine-activated endothelial cells: the contribution of CD18, ELAM-1, and VLA-4. **Blood**, v. 78, n. 10, p. 2721-2726, 1991.

HAMADA, K. et al.. Senescence of human skeletal muscle impairs the local inflammatory cytokine response to acute eccentric exercise. **FASEB**, v. 19, n. 2, p. 264-266, 2005.

HANLON, W. A. et al.. rTNF alpha facilitates human polymorphonuclear leukocyte adherence to fibrinogen matrices with mobilization of specific and tertiary but not azurophilic granule markers. **J Leukoc Biol**, v. 50, n. 1, p. 43-48, 1991.

HAN, S. K. et al.. Oleanolic acid and ursolic acid stabilize liposomal membranes. **Lipids**, v. 32, n. 7, p. 769-773, 1997.

HARRISON, J. E.; SHULTZ, J. Studies on the chlorinating activity of myeloperoxidase. **J Biol Chem**, v. 251, n. 5, p. 1371-1374, 1976.

HEBEDA, C. B. et al.. Effects of chlorogenic acid on neutrophil locomotion functions in response to inflammatory stimulus. **J Ethnopharmacol**, v. 135, n. 2, p. 261-269, 2011.

HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **J Food Sci**, v. 72, n. 9, p.138-151, 2007.

HELLSTEN, Y. et al.. Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. **J Physiol**, v. 498, n. 1, p. 239-248, 1997.

HIGBIE, E. J. et al.. Effects of concentric and eccentric training on muscle strength, cross-sectional area, and neural activation. **J Appl Physiol**, v. 81, n. 5, p. 2173-2181, 1996.

HIROSE, L. et al.. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. **Exerc Immunol Rev**, v. 10, p. 75-90, 2004.

HORTOBÁGYI, T. et al.. Greater initial adaptations to submaximal muscle lengthening than maximal shortening. **J Appl Physiol**, v. 81, n. 4, p. 1677-1682, 1996.

HOWELL, J. N.; CHLEBOUN, G.; CONATSER, R. Muscle stiffness, strength loss, swelling and soreness following exercise-induced injury in humans. **J Physiol**, v. 464, p. 183-196, 1993.

HUANG, S. M.; WU, C. H.; YEN, G. C. Effects of flavonoids on the expression of the pro-inflammatory response in human monocytes induced by ligation of the receptor for AGEs. **Mol Nutr Food Res**, v. 50, n. 12, p. 1129-1139, 2006.

HUBAL, M. J. et al.. Inflammatory gene changes associated with the repeated-bout effect. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 294, n. 5., p. 1628-1637, 2008.

HYNES, R. O. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. **Cell**, v. 69, n.1, p. 11-25, 1992.

IDE, B. N. et al. Time course of muscle damage and inflammatory responses to resistance training with eccentric overload in trained individuals. **Mediators Inflamm**, v. 2013, p. 1-6, 2013.

INGALLS, C. P. et al.. Dihydropyridine and ryanodine receptor binding after eccentric contractions in mouse skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v. 96, n. 5, p. 1619-1625, 2004.

INGALLS, C. P.; WARREN, G. L.; ARMSTRONG, R. B. Dissociation of force production from MHC and actin contents in muscles injured by eccentric contractions. **J Muscle Res Cell Motil**, v. 19, n. 3, p. 215-224, 1998.

IOM. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients)**. Washington, DC: National Academies Press; 2005. Disponível em: <http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10490>. Acesso em: 16/10/2013.

IOM. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes: applications in dietary assessment**. Washington (DC): National Academy Press; 2000. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI/DRI_Application_Dietary_Assessment/assessment_full_report.pdf>. Acesso em: 16/10/2013.

IOM. INSTITUTE OF MEDICINE. **DRI values summary**. Washington, DC: National Academies Press; 2011. Disponível em: <<http://www.iom.edu/Activities/Nutrition/SummaryDRIs/DRI-Tables.aspx>>. Acesso em: 16/10/2013.

ISCHIROPOULOS, H. et al.. Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalyzed by superoxide dismutase. **Arch Biochem Biophys**, v. 298, n. 2, p. 431-437, 1992.

JACKSON, M. J.; PYE, D.; PALOMERO, J. The production of reactive oxygen and nitrogen species by skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v. 102, n. 4, p. 1664-1670, 2007.

JACKSON, M. J.; WAGENMAKERS, A. J.; EDWARDS, R. H. Effect of inhibitors of arachidonic acid metabolism on efflux of intracellular

enzymes from skeletal muscle following experimental damage. **Biochem J**, v. 241, n. 2, p. 403-407, 1987.

JI, L. et al.. Chlorogenic acid, a dietary polyphenol, protects acetaminophen-induced liver injury and its mechanism. **J Nutr Biochem**, v. 24, n. 11, p. 1911-1919, 2013.

JI, L. L.; FU, R. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. **J Appl Physiol**, v. 72, n. 52 p. 549-554, 1992.

JONES, D. A. et al.. Experimental human muscle damage: morphological changes in relation to other indices of damage. **J Physiol**, v. 375, p. 435-448, 1986.

JONES, D. A.; NEWHAM, D. J.; TORGAN, C. Mechanical influences on long-lasting human muscle fatigue and delayed-onset pain. **J Physiol**, v. 412, p. 415-427, 1989.

JONES, S. L. et al.. Two signaling mechanisms for activation of alphaM beta2 avidity in polymorphonuclear neutrophils. **J Biol Chem**, v. 273, n. 17, p. 10556-10566, 1998.

JONSDOTTIR, I. H. et al.. Muscle contractions induce interleukin-6 mRNA production in rat skeletal muscles. **J Physiol**, v. 528, n.1, n. 157-63, 2000.

JUNG, U. et al.. Transit time of leukocytes rolling through venules controls cytokine-induced inflammatory cell recruitment in vivo. **J Clin Invest**, v. 102, n. 8, p. 1526-1533, 1998.

KAMATA, N. et al.. Activation of human neutrophils by granulocyte colony-stimulating factor, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and tumor necrosis factor alpha: role of phosphatidylinositol 3-kinase. **Int J Hematol**, v. 80, n. 5, p. 421-427, 2004.

KANDA, K. et al.. Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage. **Exerc Immunol Rev**, v. 20, p. 39-54, 2014.

KASAMA, T. et al.. Regulation of neutrophil-derived chemokine expression by IL-10. **J Immunol**, v. 152, n. 7, p. 3559-3569, 1994.

KATSUYAMA, M. NOX/NADPH oxidase, the superoxide-generating enzyme: its transcriptional regulation and physiological roles. **J Pharmacol Sci**, v. 114, n. 2, p. 134-146, 2010.

KAUR, H.; HALLIWELL, B. Action of biologically-relevant oxidizing species upon uric acid. Identification of uric acid oxidation products. **Chem Biol Interact.**, v. 73, n. 2-3, p. 235-47, 1990.

KEELE Jr, B. B.; McCORD, J. M; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase from *Escherichia coli* B: a new manganese-containing enzyme. **J Physiol Chem**, v. 245, n. 22, p. 6176-6181, 1970.

KIM, M. et al.. The primacy of affinity over clustering in regulation of adhesiveness of the integrin α _L β ₂. **J Cell Biol**, v. 167, n. 6, p. 1241-1253, 2004.

KJELDSEN, L. et al.. Isolation and characterization of gelatinase granules from human neutrophils. **Blood**, v. 83, n. 6, p. 1640-1649, 1994.

KLEIN, G. A. et al.. Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves glycemic and lipid profiles of type 2 diabetes and pre-diabetes individuals: a pilot study. **J Am Coll Nutr**, v. 30, n. 5, p. 320-332, 2011.

KNUTTGEN, H. G.; KRAEMER, W. Terminology and measurement in exercise performance. **J App Sport Sci Res**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 1987.

KON, M. et al. Eccentric muscle contractions induce greater oxidative stress than concentric contractions in skeletal muscle. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 32, n. 2, p. 273-281, 2007.

KOSONEN, O. et al.. Inhibition by nitric oxide-releasing compounds of E-selectin expression in and neutrophil adhesion to human endothelial cells. **Eur J Pharmacol**, v. 394, n. 1, p. 149-156, 2000.

KOVACS, M. S; ELLENBECKER, T. S. A performance evaluation of the tennis serve: implications for strength, speed, power, and flexibility training. **Strength Cond J**. v. 33, n. 4, p.22-30, 2011.

KRAEMER, W. J. et al.. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 2, p. 364-380, 2002.

KRIEGLER, M. et al.. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. **Cell**, v. 53, n. 1, p. 45-53, 1988.

KUNKEL, E. J.; DUNNE, J. L.; LEY, K. Leukocyte arrest during cytokine-dependent inflammation in vivo. **J Immunol**, v. 164, n. 6, p. 3301-3308, 2000.

LAMB, G. D.; STEPHENSON, D. G. Effects of FK506 and rapamycin on excitation-contraction coupling in skeletal muscle fibres of the rat. **J Physiol**, v. 494, n. 2, p. 569-576, 1996.

LANZETTI, M. et al.. Mate tea reduced acute lung inflammation in mice exposed to cigarette smoke. **Nutrition**, v. 24, n. 4, p. 375-381, 2008.

LAPOINTE, B. M.; FRENETTE, J.; CÔTÉ, C. H. Lengthening contraction-induced inflammation is linked to secondary damage but devoid of neutrophil invasion. **J Appl Physiol**, v. 92, n. 5, p. 1995-2004, 2002.

LASTAYO, P. C. et al.. Chronic eccentric exercise: improvements in muscle strength can occur with little demand for oxygen. **Am J Physiol**, v. 276, n. 2, p. 611-615, 1999.

LAI, Y., et al.. Dystrophins carrying spectrin-like repeats 16 and 17 anchor nNOS to the sarcolemma and enhance exercise performance in a mouse model of muscular dystrophy. **J Clin Invest**, v. 119, n. 3, p. 624-635, 2009.

LEBHERZ, H. G.; RUTTER, W. J. Distribution of fructose diphosphate aldolase variants in biological systems. **Biochemistry**, v. 8, n.1, p. 109-121, 1969.

LEE, C. Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. **Clin Chim Acta**, v. 295, n. 1-2, p. 141-154, 2000.

LEE, J. et al.. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 3, p. 443-448, 2002.

LEE, W. L.; HARRISON, R. E.; GRINSTEIN, S. Phagocytosis by neutrophils. **Microbes Infect**, v. 5, n. 14, p.1299-1306, 2003.

LEEUWENBURGH, C.; JI, L. L. Glutathione depletion in rested and exercised mice: biochemical consequence and adaptation. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 316, n. 2, p. 941-949, 1995.

LEFER, A. M.; LEFER, D. J. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. **Cardiovasc Res**, v. 32, n. 4, p. 743-751, 1996.

LEFFELL, M. S.; SPITZNAGEL, J. K. Intracellular and extracellular degranulation of human polymorphonuclear azurophil and specific granules induced by immune complexes. **Infect Immun**, v. 10, n. 6, p. 1241-1249, 1974.

LEONARD, S. S. et al.. Analysis of free-radical scavenging of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) using electron spin resonance and radical-induced DNA damage. **J Food Sci**, v. 75, n. 1, p. 14-20, 2010.

LEVINE, R. L et al.. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol**, v. 186, p. 464-478, 1990.

LEWIS, P. B.; RUBY, D.; BUSH-JOSEPH, C. A. Muscle soreness and delayed-onset muscle soreness. **Clin Sports Med**, v. 31, n. 2, p. 255-262, 2012.

LEY, K. et al.. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. **Nat Rev Immunol**, v. 7, n. 9, p. 678-689, 2007.

LI, W. et al.. Interleukin-1 stimulates catabolism in C2C12 myotubes. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 297, n. 3, p. 706-714, 2009.

LI, Y. P. et al.. TNF-alpha increases ubiquitin-conjugating activity in skeletal muscle by up-regulating UbCH2/E220k. **FASEB J**, v. 17, n. 9, p. 1048-1057, 2003.

LIAO, P. et al.. Eccentric contraction induces inflammatory responses in rat skeletal muscle: role of tumor necrosis factor-alpha. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 298, n. 3, p. 599-607, 2010.

LIEBER, R. L.; THORNELL, L. E.; FRIDÉN, J. Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction. **J Physiol**, v. 80, n. 1, p. 278-284, 1996.

LIM, P. et al.. Peroxyl radical mediated oxidative DNA base damage: implications for lipid peroxidation induced mutagenesis. **Biochemistry**, v. 43, n. 49, p. 15339-15348, 2004.

LIMA-CABELLO, E. et al.. Eccentric exercise induces nitric oxide synthase expression through nuclear factor-kappaB modulation in rat skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v. 108, n. 3, p. 575-583, 2010.

LIU, W. et al.. Saponins (Ginsenosides) from stems and leaves of *Panax quinquefolium* prevented high-fat diet-induced obesity in mice. **Phytomedicine**, v. 15, n. 12, p. 1140-1145, 2008.

LOMONOSOVA, Y. N. et al.. L-arginine supplementation protects exercise performance and structural integrity of muscle fibers after a single bout of eccentric exercise in rats. **PLoS One**, v. 9, n. 4, e94448, 2014.

LORENT, J. H.; QUETIN-LECLERCQ, J.; MINGEOT-LECLERCQ, M. P. The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells. **Org Biomol Chem**, v. 12, n. 44, p. 8803-8822, 2014.

LOWE, D. A. et al.. B. Muscle function and protein metabolism after initiation of eccentric contraction-induced injury. **J Appl Physiol**, v. 79, n. 4, p. 1260-1270, 1995.

LU, Y.; WAHL, L. M. Oxidative stress augments the production of matrix metalloproteinase-1, cyclooxygenase-2, and prostaglandin E2

through enhancement of NF-kappa B activity in lipopolysaccharide-activated human primary monocytes. **J Immunol**, v. 175, n. 8. p. 5423-5420, 2005.

LUB, M.; VAN KOOYK, Y.; FIGDOR, C. G. Ins and outs of LFA-1. **Immunol Today**, v. 16, n. 10, p. 479-483, 1995.

LUO, B.; CARMAN, C. V.; SPRINGER, T. A. Structural basis of integrin regulation and signaling. **Annu Rev Immunol**, v. 25, p. 619-647, 2007.

MACALUSO, F.; ISAACS, A. W.; MYBURGH, K. H. Preferential type II muscle fiber damage from plyometric exercise. **J Athl Train**, v. 47, n. 4, p. 414-20, 2012.

MACBETH, G.; RAZUMIEJCZYK, E.; LDESMA, R. D. Cliff 's Delta Calculator: A non-parametric effect size program for two groups of observations. **Univ Psychol**, v. 10, n. 2 , p. 545-555, 2011.

MACHADO, F. C. S. et al.. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire based on food groups, in adult population of the metropolitan region of Porto Alegre, Brazil. **Rev Nutr**, v. 25, n. 1, p. 65-67, 2012.

MACHLIN, L. BENDICH, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. **FASEB J**, v. 1, p. 441-445, 1987.

MacINTYRE, D. L. et al.. Different effects of strenuous eccentric exercise on the accumulation of neutrophils in muscle in women and men. **Eur J Appl Physiol**, v. 81, n. 1-2, p. 47-53, 2000.

MacINTYRE, D. L. et al.. Markers of inflammation and myofibrillar proteins following eccentric exercise in humans. **Eur J Appl Physiol**, v. 84, n. 3, p. 180-186, 2001.

MacINTYRE, D. L. et al.. Presence of WBC, decreased strength, and delayed soreness in muscle after eccentric exercise. **J Appl Physiol**, v. 80, n. 3, p. 1006-1013, 1996.

MAHONEY, D. J. et al.. Gene expression profiling in human skeletal muscle during recovery from eccentric exercise. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 294, n. 6, p. 1901-1910, 2008.

MALM, C. et al.. Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. **J Physiol**, v. 529, n. 1, p. 243-62, 2000.

MALM, C. et al.. Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. **J Physiol**, v. 556, n. 3, p. 983-1000, 2004.

MALM, C.; LENKEI, R.; SJÖDIN B. Effects of eccentric exercise on the immune system in men. **J Appl Physiol**, v. 86, n. 2, p. 461-488, 1999.

MALM, C.; YU, J. G. Exercise-induced muscle damage and inflammation: re-evaluation by proteomics. **Histochem Cell Biol**, v. 138, n. 1, p. 89-99, 2012.

MARNELL, L.; MOLD, C.; DU CLOS, T. W. C-reactive protein: ligands, receptors and role in inflammation. *Clin Immunol*, v. 117, n. 2, p. 104-111, 2005.

MARKS, R. M.; TODD, RF 3RD.; WARD, P. A. Rapid induction of neutrophil-endothelial adhesion by endothelial complement fixation. **Nature**, v. 339, n. 6222, p. 314-317, 1989.

MARQUESTE, T. et al.. Eccentric exercise alters muscle sensory motor control through the release of inflammatory mediators. **Brain Res**, v. 1023, n. 2, p. 222-230, 2004.

MARTIN, V. et al.. Group III and IV muscle afferent discharge patterns after repeated lengthening and shortening actions. **Muscle Nerve**, v. 40, n. 5, p. 827-837, 2009.

MARX, S. O. et al.. Phosphorylation-dependent regulation of ryanodine receptors: a novel role for leucine/isoleucine zippers. **J Cell Biol**, v. 153, n. 4, p. 699-708, 2003.

MARX, S. O.; ONDRIAS, K.; MARKS, A. R Coupled gating between individual skeletal muscle Ca²⁺ release channels (ryanodine receptors). **Science**, v. 281, n. 5378, p. 818-821, 1998.

MATSUDO, S. et al.. Questionário internacional de atividade física(IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Rev Bras Ativ Fis Saúde**, v. 6, n. 2, 05-18, 2001.

MATSUMOTO, R. L. et al.. Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. **J Agric Food Chem**, v. 57, n. 5, p. 1775-1780, 2009.

MAUGHAN, R. J. et al.. Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. **Muscle Nerve**, v. 12, n. 4, p. 322-336, 1989.

MAZZAFERA, P. Maté drinking: caffeine and phenolic acid intake. **Food Chem**, v. 60, n. 1, p. 67-71, 2007.

McCARTHY, D. A. Studies on the immediate and delayed leucocytosis elicited by brief (30-min) strenuous exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 64, n. 6, p. 513-517, 1992.

McCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemoglobin (hemocyanin). **J Physiol Chem**, v. 244, n. 22, p. 6049-6055, 1969.

McLEAY, Y. et al.. Effect of New Zealand blueberry consumption on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 9, n. 1, p. 19, 2012.

McNEIL, P. L.; KHAKEE, R. Disruptions of muscle fiber plasma membranes. Role in exercise-induced damage. **Am J Pathol**, v. 140, n. 5, p. 1097-1109, 1992.

MEDRADO, M. **Cultivo da erva mate: preparação do mate tostado**. Embrapa: sistemas de produção, Brasil, ago. 2010. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva-mate/CultivodaErvaMate_2ed/Processamento_preparacao_cha_mate.htm. Acesso em: 11/10/2013.

MEISSNER, G. Regulation of ryanodine receptor ion channels through posttranslational modifications. **Curr Top Membr**, v. 66, p. 91-113, 2010.

MERI, S. Loss of self-control in the complement system and innate autoreactivity. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1109, p. 93-105, 2007.

MICHAILIDIS, Y. et al.. Thiol-based antioxidant supplementation alters human skeletal muscle signaling and attenuates its inflammatory response and recovery after intense eccentric exercise. **Am J Clin Nutr**, v. 98, n. 1, p. 233-245, 2013.

MILIAS, G. A. et al.. Effects of eccentric exercise-induced muscle injury on blood levels of platelet activating factor (PAF) and other inflammatory markers. **Eur J Appl Physiol**, v. 95, n. 5-6, p. 504-513, 2005.

MIOT, H. A. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. **J Vasc Bras**, v.10, n. 4, p. 275-278, 2011.

MOCELLIN, S. et al.. The dual role of IL-10. **Trends Immunol**, v. 24, n. 1, p. 36-45, 2003.

MORAIS, E. C. et al.. Consumption of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. **J Agric Food Chem**, v. 57, n.18, p. 8316-8324, 2009a.

MORAIS, Elayne Cristina de. **Avaliação dos efeitos hipocolesterolêmico, antioxidante e anti-inflamatório da infusão de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em indivíduos normolipidêmicos ou dislipidêmicos, usuários ou não de estatina.** 2008. 128p. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Programa de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009b.

MORGAN, D. L. New insights into the behavior of muscle during active lengthening. **Biophys J**, v. 57, n. 2, p. 209-221, 1990.

MORGAN, D. L.; PROSKE, U. Popping sarcomere hypothesis explains stretch-induced muscle damage. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v, 31, n. 8, p. 541-545, 2004.

MORGAN, D. L.; ALLEN, D. G. Early events in stretch-induced muscle damage. **J Appl Physiol**, v. 87, n. 6, p. 2007-2015, 1999.

MORGAN-MARTINS, M. A.; SILVA, V. S.; LICKS, S. et al.. Ilex paraguariensis St. Hill (yerba mate) improves the metabolic profile of and protects against oxidative stress in exercised and non-exercised rats. **Int J Pharm Bio Sci**, v. 4, n.4, p. 1303-1311, 2013.

MOSKAUG, J. Ø. et al.. Dietary polyphenols identified as intracellular protein kinase A inhibitors. **Eur J Nutr**, v. n. 47, p. 8, 460-9, 2008.

MUCCILLO BAISCH, A.; JOHNSTON, K. B.; PAGANINI, F. L. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of aqueous extracts of Ilex paraguariensis on mesenteric arterial bed of rats. **Ethnopharmacol**, v. 60, n. 2, p. 133-139, 1998.

NATHAN, C. F. Neutrophil activation on biological surfaces. Massive secretion of hydrogen peroxide in response to products of macrophages and lymphocytes. **J Clin Invest**, v. 80, n. 6, p. 1550-1560, 1987.

NEWHAM, D. J. et al.. Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. **J Neurol Sci**, v. 61, n. 1, p. 109-122, 1983.

NEWHAM, D. J.; JONES, D. A.; EDWARDS, R. H. Large delayed plasma creatine kinase changes after stepping exercise. **Muscle Nerve**, v. 6, n. 5, p. 380-385, 1983.

NEWHAM, D. J.; JONES, D. A.; EDWARDS, R. H. Plasma creatine kinase changes after eccentric and concentric contractions. **Muscle Nerve**, v. 9, n. 1, p. 59-63, 1986.

NEWTON, M. J. et al.. Do dominant and non-dominant arms respond similarly to maximal eccentric exercise of the elbow flexors? **J Sci Med Sport**, v. 16, n. 2, p. 166-171, 2013.

NGUYEN, H. X; TIDBALL, J. G. Expression of a muscle-specific, nitric oxide synthase transgene prevents muscle membrane injury and reduces muscle inflammation during modified muscle use in mice. **J Physiol**, v. 550, n. 2, p. 347-356, 2003a.

NGUYEN , H. X.; TIDBALL, J. G. Interactions between neutrophils and macrophages promote macrophage killing of rat muscle cells in vitro. **J Physiol**, v. 547, n. 1, p. 125-132, 2003b.

NGUYEN, H. X; TIDBALL, J. G. Null mutation of gp91phox reduces muscle membrane lysis during muscle inflammation in mice. **J Physiol**, v. 553, n. 3, p. 833-841, 2003c.

NIKOLAIDIS, M. G. et al.. Decreased blood oxidative stress after repeated muscle-damaging exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n.7, p. 1080-1089, 2007.

NIKOLAIDIS, M. G. et al.. Redox biology of exercise: an integrative and comparative consideration of some overlooked issues. **J Exp Biol**, v. 215, n. 10, p. 1615-1625, 2012.

NIKOLAIDIS, M. G. et al.. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. **Sports Med**, v. 8, n. 7, p. 579-606, 2008.

NOAKES, T. D. Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. **Sports Med**, v. 4, n. 4. p. 245-267, 1987.

NOSAKA, K.; CLARKSON, P. M. Variability in serum creatine kinase response after eccentric exercise of the elbow flexors. **Int J Sports Med**, v. 7, n. 2, p. 12012-7, 1996.

NOSAKA, K.; NEWTON, M. Difference in the magnitude of muscle damage between maximal and submaximal eccentric loading. **J Strength Cond Res**, v. 16, n. 2, p. 202-208, 2002.

NOUROOZ-ZADEH, J.; TAJADDINI-SARMADI, J.; WOLFF, S. P. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. **Analytical Biochemistry**. v. 220, n. 2, p.403-409, 1994.

O'FALLON, K. S. et al.. Effects of quercetin supplementation on markers of muscle damage and inflammation after eccentric exercise. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 22, n. 6, p. 430-437, 2012.

OLIVEIRA, Erick Prado de. **Efeito do consumo agudo de erva mate sobre o rendimento físico em esteira ergométrica e indicadores**

metabólicos da exaustão em jogadores profissionais de futebol. 2014. 44 p. Tese (Doutorado em Patologia) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina de Botucatu, São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/114041>>.

OVESNÁ, Z.; KOZICS, K.; SLAMENOVÁ, D. Protective effects of ursolic acid and oleanolic acid in leukemic cells. **Mutat Res**, v. 600, n. 1-2, p. 131-137, 2006.

PAGANINI STEIN, F. L. et al.. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. **Biol Res Nurs**, v. 7, n. 2, p. 146-156, 2005.

PAGE, S. et al.. Xanthine oxidoreductase in human mammary epithelial cells: activation in response to inflammatory cytokines. **Biochim Biophys Acta**, v. 1381, n. 2, p. 191-201, 1998.

PANZA, V. S. et al.. Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men. **Nutrition**, v. 24, n. 5, p. 433-442, 2008.

PANZA V. S.; DIENFENTHAELER, F.; da SILVA, E. L. Benefits of dietary phytochemical supplementation on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage: is including antioxidants enough? **Nutrition**, v. 31, n. 9, p.1072-1082, 2015.

PANZA, V. P. P. et al.. Consumo alimentar de atletas: reflexões sobre recomendações nutricionais, hábitos alimentares e métodos para avaliação do gasto e consumo energéticos. **Rev Nutr**, v. 20, n. 6, p. 681-692, 2007.

PASCHALIS, V. et al.. Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise. **In Vivo**, v. 21, n. 5, p. 877-883, 2007.

PAULSEN, G. et al.. Delayed leukocytosis and cytokine response to high-force eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 11, p.1877-1883, 2005.

PAULSEN, G. et al.. Inflammatory markers CD11b, CD16, CD66b, CD68, myeloperoxidase and neutrophil elastase in eccentric exercised human skeletal muscles. **Histochem Cell Biol**, v.139, n. 5, p. 691-715, 2013.

PAULSEN, G. et al.. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? **Exerc Immunol Rev**, v. 18, p. 42-97, 2012.

PAULSEN, G. et al.. Time course of leukocyte accumulation in human muscle after eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 1, p. 75-85, 2010.

PEAKE, J. et al.. Changes in neutrophil surface receptor expression, degranulation, and respiratory burst activity after moderate- and high-intensity exercise. **J Appl Physiol**, v. 97, n. 2, p. 612-618, 2004.

PEAKE, J. M. et al.. Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. **Eur J Appl Physiol**, v. 95, n. 5-6, p. 514-521, 2005b.

PEAKE, J. M. et al.. Exercise-induced muscle damage, plasma cytokines, and markers of neutrophil activation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 5, p. 737-745, 2005a

PEAKE, J. M. et al.. Systemic inflammatory responses to maximal versus submaximal lengthening contractions of the elbow flexors. **Exerc Immunol Rev**, v. 12, p. 72-85, 2006.

PEAKE, J.; NOSAKA, K.; SUZUKI, K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. **Exerc Immunol Rev**, v. 11, p. 64-85, 2005.

PEDERSEN, B. K. Muscles and their myokines. **J Exp Biol**, v. 214, n. 2, p. 337-346, 2011.

PEDERSEN, B. K.; FEBBRAIO, M. A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. **Physiol Rev**, v. 88, n. 4, p. 1379-1406, 2008.

PEDERSEN, B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiol Rev**, v. 80, n. 3, p. 1055-1081, 2000.

PERALTA, I. N. et al. Prevention of hydrogen peroxide-induced red blood cells lysis by *Ilex paraguariensis* aqueous extract: participation of phenolic and xanthine compounds. **Phytother Res**, v. 27, n. 2, p. 192-198, 2013.

PERROT-MINNOT, M. J.; SANCHEZ-THIRION, K.; CÉZILLY, F. Multidimensionality in host manipulation mimicked by serotonin injection. **Proc Biol Sci**, v. 281, n. 1796, p. 20141915, 2014.

PETERSEN, A. M.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **J Appl Physiol**, v. 98, n. 4, p. 1154-1162, 2005.

PETERSEN, A. M.; PEDERSEN, B. K. The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise. **J Physiol Pharmacol**, v. 57, n. 10, p. 43-51, 2006.

PETRONE, W. F. et al. Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 77, n. 2, p. 1159-1153, 1980.

PETROSKI, E. L (Ed.). **Antropometria: técnicas e padronizações**. 5. ed. Rio Branco: Fontoura, 2011. 208p.

PETROSKI, E. L. **Desenvolvimento e validação de equações generalizadas para a estimativa da densidade corporal em adultos**. 1995. 124 p. Tese (Doutorado em Ciência do Movimento Humano). Program de pós-graduação em Ciência do Movimento Humano, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 1995.

PHILLIPS, K. C. et al.. Optimizing rock climbing performance through sport-specific strength and conditioning. **Strength Cond J**. v. 34, n. 3, p. 1-18, 2012.

PHIMISTER, A. J. et al. Conformation-dependent stability of junctophilin 1 (JP1) and ryanodine receptor type 1 (RyR1) channel

complex is mediated by their hyper-reactive thiols. **J Biol Chem.** 2007 Mar 23;282(12):8667-77.

PIMENTEL, G. D. et al.. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. **J Nutr Biochem**, v. 24, n. 5, p. 809-818, 2013.

PIZZA, F. X. et al.. Adaptation to eccentric exercise: effect on CD64 and CD11b/CD18 expression. **J Appl Physiol**, v. 80, n. 1, p. 47-55, 1996.

PIZZA, F. X. et al.. Exercise-induced muscle damage: effect on circulating leukocyte and lymphocyte subsets. **Med Sci Sports Exerc**, v. 27, n. 3, p. 363-370, 1995.

PIZZA, F. X. et al.. Neutrophils contribute to muscle injury and impair its resolution after lengthening contractions in mice. **J Physiol**, v. 562, n. 3, p. 899-913, 2005.

PIZZA, F. X.; BAYLIES, H.; MITCHELL, J. B. Adaptation to eccentric exercise: neutrophils and E-selectin during early recovery. **Can J Appl Physiol**, v. 26, n. 3, p. 245-253, 2001.

POWERS, S. K. et al.. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. **Exp Physiol**, v. 95, n. 1, 1-9, 2010.

POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiol Rev**, v. 88, n. 4, p. 1243-1276, 2008.

PRITSOS, C. A. Cellular distribution, metabolism and regulation of the xanthine oxidoreductase enzyme system. **Chem. Biol. Interact.**, v. 129, n. 1-2, p. 195-208, 2000.

PROSKE, U.; ALLEN, T. J. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 33, n. 2, p. 98-104, 2005.

PROSKE, U.; MORGAN, D. L. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. **J Physiol**, v. 1, n. 537, p. 333-345, 2001.

PUANGPRAPHANT, S., DE MEJIA E. G. Saponins in yerba mate tea (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) and quercetin synergistically inhibit iNOS and COX-2 in lipopolysaccharide-induced macrophages through NFkappaB pathways. **J Agric Food Chem**, v. 57, n. 19, p. 8873-8883, 2009.

PYNE, D. B. et al.. Neutrophil oxidative activity is differentially affected by exercise intensity and type. **J Sci Med Sport**, v. 3, n. 1, p. 44-54, 2000.

PYNE, D. B. Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. **Aust J Sci Med Sport**, v. 26, n. 3-4, p. 49-58, 1994.

QUINDRY, J. et al.. Muscle-fiber type and blood oxidative stress after eccentric exercise. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 21, n. 6. p. 462-470, 2011.

RA, S. G. et al.. Combined effect of branched-chain amino acids and taurine supplementation on delayed onset muscle soreness and muscle damage in high-intensity eccentric exercise. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 10, n. 1, p.51, 2013.

RAASTAD, T. et al.. Changes in calpain activity, muscle structure, and function after eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 1, p.86-95, 2010.

RAASTAD, T. et al.. Temporal relation between leukocyte accumulation in muscles and halted recovery 10-20 h after strength exercise. **J Appl Physiol**, v. 95, n. 6, p. 2503-2509, 2003.

RADÁK, Z. et al.. Muscle soreness-induced reduction in force generation is accompanied by increased nitric oxide content and DNA damage in human skeletal muscle. **Free Radic Biol Med**, v. 26, n. 7-8, p. 1059-1063, 1999.

RAJ, D. A.; BOOKER, T. S.; BELCASTRO, A. N. Striated muscle calcium-stimulated cysteine protease (calpain-like) activity promotes myeloperoxidase activity with exercise. **Pflugers Arch**, v. 435, n. 6, p. 804-809, 1998.

RAMEL, A.; WAGNER, K.; ELMADFA, I. Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in man. **Eur. J. Nutr.**, v. 43, n. 1, p. 2-6, 2004.

RAMOS, C. L.; POU, S.; ROSEN, G. M. Effect of anti-inflammatory drugs on myeloperoxidase-dependent hydroxyl radical generation by human neutrophils. **Biochem Pharmacol**, v. 49, n. 8, p.1079-1084, 1995.

RATAMESS, N. A. Strength and conditioning for grappling sports. **Strength Cond J**. v. 33, n. 6, p.18-24, 2011.

REIKEN, S. et al.. PKA phosphorylation activates the calcium release channel (ryanodine receptor) in skeletal muscle: defective regulation in heart failure. **J Cell Biol**, v. 160, n. 6, p. 919-928, 2003.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic Biol Med**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RICHTER, J. et al.. Tumor necrosis factor-induced degranulation in adherent human neutrophils is dependent on CD11b/CD18-integrin-triggered oscillations of cytosolic free Ca²⁺. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 87, n. 23, p. 9472-9476, 1990.

RODGERS, M. M; CAVANAGH, P. R. Glossary of biomechanical terms, concepts, and units. **Phys Ther**, v. 64, n. 12, p. 1886-1902, 1984.

ROMANO, J. et al.. **2006 Exploring methods for evaluating group differences on the NSSE and other surveys: are the t-test and Cohen's d indices the most appropriate choices?** In: Annual meeting of the Southern Association of Institutional Research, 2006, Arlington, VA USA. Artigo. Virgínia, USA, 2006. Disponível em: <http://www.coedu.usf.edu/main/departments/me/documents/MethodsforEvaluatingGroup>

ROSNER, B. **Fundamentals of biostatistics**. 7. ed. Boston: Cengage Learning, 2011. 888p.

ROSS, G. D.; LAMBRIS, J. D. Identification of a C3bi-specific membrane complement receptor that is expressed on lymphocytes,

monocytes, neutrophils, and erythrocytes. **J Exp Med**, v.155, n. 1, p. 96-110, 1982.

ROSS, M. L. R. et al.. Cytokine responses to carbohydrate ingestion during recovery from exercise-induced muscle injury. **J Interferon Cytokine Res**, v. 30, n. 5, p. 329-337, 2010.

ROTTA, E.; OLIVEIRA, Y. M . Ml. **Cultivo da erva mate: distribuição geográfica da erva mate**. Embrapa: sistemas de produção, Brasil, ago. 2010. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva-mate/CultivodaErvaMate_2ed/Distrib_geograf.htm. Acesso em: 11/10/2013.

ROUSSEAU, E.; SMITH, J. S.; MEISSNER, G. Ryanodine modifies conductance and gating behavior of single Ca²⁺ release channel. **Am J Physiol**, v. 253, n. 3, p. 364-368, 1987.

SAKURAI, T. et al.. Role of nitric oxide in muscle regeneration following eccentric muscle contractions in rat skeletal muscle. **J Physiol Sci**, v. 63, n. 4, p. 263-270, 2013.

SALDAÑA , M. D. et al.. Extraction of purine alkaloids from maté (*Ilex paraguariensis*) using supercritical CO₂. **J Agric Food Chem**, v. 47, n. 9, p. 3804-3808, 1999.

SATO, Y et al.. Nitric oxide reduces the sequestration of polymorphonuclear leukocytes in lung by changing deformability and CD18 expression. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 159, n. 5, p.1469-1476,1999.

SAXTON, J. M. et al.. Peripheral blood leucocyte functional responses to acute eccentric exercise in humans are influenced by systemic stress, but not by exercise-induced muscle damage. **Clin Sci**, v. 104, n. 1, p. 69-77, 2003.

SAXTON, J. M.; POCKLEY, A. G. Effect of ex vivo storage on human peripheral blood neutrophil expression of CD11b and the stabilizing effects of Cyto-Chex. **J Immunol Methods**, v. 214, n. 1-2, p. 11-17, 1998.

SAYER, S. P.; CLARKSON, P. M. Force recovery after eccentric exercise in males and females. **Eur J Appl Physiol**, v. 84, n. 1-2, p. 122-126, 2001.

SCHINDLER, R. et al.. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. **Blood**, v. 75, n. 1, p. 40-47, 1990.

SCHINELLA, G. et al.. An aqueous extract of *Ilex paraguariensis* reduces carrageenan-induced edema and inhibits the expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in animal models of inflammation. **Planta Med**, v. 80, n. 12, p. 961-968, 2014.

SCHINELLA, G. R. et al.. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 269, n. 2, p. 357-360, 2000.

SCHINELLA, G.; FANTINELLI, J. C.; MOSCA, S. M. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. **Clin Nutr**, v. 24, n. 3, p. 360-366, 2005.

SCHNEIDER, B. S.; TIIDUS, P. M. Neutrophil infiltration in exercise-injured skeletal muscle: how do we resolve the controversy? **Sports Med**, v. 37, n. 10, p. 837-856, 2007.

SCHYMEINSKY, J.; MÓCSAI, A.; WALZOG, B. Neutrophil activation via beta2 integrins (CD11/CD18): molecular mechanisms and clinical implications. **Thromb Haemost**, v. 98, n. 2, p. 262-273, 2007.

SENGELØV H. et al.. Mobilization of granules and secretory vesicles during in vivo exudation of human neutrophils. **J Immuno**, v. 154, n. 8, p. 4157-4165, 1995.

SENGELØV, H.; NIELSEN, M. H, BORREGAARD, N. Separation of human neutrophil plasma membrane from intracellular vesicles containing alkaline phosphatase and NADPH oxidase activity by free flow electrophoresis. **J Biol Chem**, v. 267, n. 21, p. 14912-14917, 1992.

SENGELØV, H. et al.. Subcellular localization and dynamics of Mac-1 (alpha m beta 2) in human neutrophils. **J Clin Invest**, v. 92, n. 3, p. 1467-1476, 1993.

SERAFINI, M.; MAIANI, G.; FERRO-LUZZI, A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. **J Nutr**, v. 128, n. 6, p. 1003-1007, 1998.

SESTO, M. E, et al.. Mechanical and magnetic resonance imaging changes following eccentric or concentric exertions. **Clin Biomech**, v. 23, n. 7, p. 961-969, 2008.

SHEN, Y. C.; SUNG, Y. J.; CHEN, C. F. Magnolol inhibits Mac-1 (CD11b/CD18)-dependent neutrophil adhesion: relationship with its antioxidant effect. **Eur J Pharmacol**, v. 343, n. 1, p.79-86, 1998.

SHERWIN, A. L.; KARPATI, G.; BULCKE, J. A. Immunohistochemical localization of creatine phosphokinase in skeletal muscle. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 64, n. 1, p. 171-175, 1969.

SIES, H. et al.. Glutathione peroxidase against peroxynitrite-mediated oxidations: a new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase. **J Biol Chem**, v. 272, n. 44, p. 27812-27817, 1997.

SIGAL, I. et al.. MAPKs and NF- κ B differentially regulate cytokine expression in the diaphragm in response to resistive breathing: the role of oxidative stress. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 300, n. 5, p. 1152-1162, 2011.

SILVA, E.L. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. **Food Res Int**, v. 41, n. 10, p. 973-979, 2008.

SILVA, L. A. et al.. Vitamin E supplementation decreases muscular and oxidative damage but not inflammatory response induced by eccentric contraction. **J Physiol Sci**, v. 60, n. 1, p. 51-57, 2010.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SIRI, WE. Body composition from fluid space and density. In: Brozek, J; Hanschel, A. (Eds). **Thechniques for measuring body composition**. Washington: National Academy of Science, 1961, p. 233-224.

SLIVKA, A.; LOBUGLIO, A. F.; WEISS, S. J. A potential role for hypochlorous acid in granulocyte-mediated tumor cell cytotoxicity. **Blood**, v. 55, n. 2, p. 347-350, 1980.

SMITH, C. et al.. The inflammatory response to skeletal muscle injury: illuminating complexities. **Sport Med**, v. 38, n. 11, p. 947-969, 2008.

SMITH, L. L. et al.. Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. **Eur J Physiol**, v. 82, n. 1-2, p. 61-67, 2000.

SOARES, N. T; MAIA, F. M. M. **Avaliação do consumo alimentar: recursos teóricos e aplicação das DRIs**. Rio de janeiro: MedBook, 2013. 244p.

SORESCU, D. et al.. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, n. 12, p.1429-1435, 2002.

SORICHTER, S. et al.. Skeletal troponin I as a marker of exercise-induced muscle damage. **J Appl Physiol**, v. 83, n. 4, p. 1076-1082, 1997.

SOUZA, J. M. et al.. Proteolytic degradation of tyrosine nitrated proteins. Arch **Biochem Biophys**, v. 380, n. 2, p. 360-366, 2000.

SPRINGER, T. A; WANG, J. The three-dimensional structure of integrins and their ligands, and conformational regulation of cell adhesion. **Adv Protein Chem**, v. 68, p. 29-63, 2004.

STEENSBERG, A. et al.. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 285, n. 2, p. 433-437, 2003.

STEWART, M.; MORTON, D. J.; CLARKE, F. M. Interaction of aldolase with actin-containing filaments. Structural studies. **Biochem J**, v. 186, n. 1, p. 99-104, 1980.

STOCKER, R. et al.. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. **Science**, v. 235, n. 4792, p. 1043-1046, 1987.

STRASSMANN, B. B. et al.. Quantitation of methylxanthinic alkaloids and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis*) and their effects on blood vessel formation in chick embryos. **J Agric Food Chem**, v. 56, n. 18, p. 8348–8353, 2008.

SUN, J. et al.. Nitric oxide, NOC-12, and S-nitrosoglutathione modulate the skeletal muscle calcium release channel/ryanodine receptor by different mechanisms. An allosteric function for O₂ in S-nitrosylation of the channel. **J Biol Chem**, v. 278, n. 10, p. 8184-8189, 2003.

SUZUKI, K. et al.. Cytokine-specific activation of distinct mitogen-activated protein kinase subtype cascades in human neutrophils stimulated by granulocyte colony-stimulating factor, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and tumor necrosis factor- α . **Blood**, v. 93, n. 1, p. 341-349, 1999b.

SUZUKI, K. et al.. Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. **J Appl Physiol**, v. 87, n. 4, p. 1360-1367, 1999a.

TANABE, Y. et al., Attenuation of indirect markers of eccentric exercise-induced muscle damage by curcumin. **Eur J Appl Physiol**, v. 115, n. 9, p. 1949-1957, 2015.

TAKEKURA, H. et al.. Eccentric exercise-induced morphological changes in the membrane systems involved in excitation-contraction coupling in rat skeletal muscle. **J Physiol**, v. 533, v. 2, p. 571-583, 2001.

TAKESHIMA, H. et al.. Junctophilins: a novel family of junctional membrane complex proteins. **Mol Cell**, v. 6, n. 1, p. 11-22, 2000.

TALBOT, J. A.; MORGAN, D. L. The effects of stretch parameters on eccentric exercise-induced damage to toad skeletal muscle. **J Muscle Res Cell Motil**, v. 19, n. 3, p. 237-245, 1998.

TARTIBIAN, B.; MALEKI, B. H.; ABBASI, A. The effects of ingestion of omega-3 fatty acids on perceived pain and external symptoms of delayed onset muscle soreness in untrained men. **Clin J Sport Med**, v. 19, n. 2, p. 115-119, 2009.

THEODOROU, A. A. et al.. No effect of antioxidant supplementation on muscle performance and blood redox status adaptations to eccentric training. **Am J Clin Nutr**, v. 93, n. 6, p. 1373-1383, 2011.

THOMAS, P. et al.. Protective action of phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation. **J Biol Chem**, v. 265, n. 1, p.454-461, 1990.

THOMPSON, D.; PEPYS, M. B.; WOOD, S. P. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. **Structure**, v. 7, n. 2, p. 169-177, 1999.

THOMPSON, F. E.; BYERS, T. Dietary assessment resource manual. **J Nutr**, v. 124, n. 11, p. 2245S-2317S, 1994.

TIDBALL, J. G. Inflammatory cell response to acute muscle injury. **Med Sci Sports Exerc**, v. 27, n. 7, p. 1022-1032, 1995.

TIDBALL, J. G. Inflammatory processes in muscle injury and repair. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 288, n. 2, p. 345-353, 2005.

TIDBALL, J. G.; BERCHENKO, E.; FRENETTE, J. Macrophage invasion does not contribute to muscle membrane injury during inflammation. **J Leukoc Biol**, v. 65, n. 4, p. 492-498, 1999.

TIDBALL, J. G.; VILLALTA, S. A. Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 298, n. 5, p. 1173-1187, 2010.

TILG, H. et al.. Antiinflammatory properties of hepatic acute phase proteins: preferential induction of interleukin 1 (IL-1) receptor antagonist over IL-1 beta synthesis by human peripheral blood mononuclear cells. **J Exp Med**, v. 178, n. 5, p. 1629-1636, 1993.

TROMBOLD, J. R. et al.. Ellagitannin consumption improves strength recovery 2-3 d after eccentric exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 3, p. 493-498, 2010.

TRUJILLO, E.; DAVIS, C.; MILNER, J. Nutrigenomics, proteomics, metabolomics, and the practice of dietetics. **J Am Diet Assoc**, v.106, n. 3, p. 403-413, 2006.

TSENG, J.; MORTENSEN, R. F. The effect of human C-reactive protein on the cell-attachment activity of fibronectin and laminin. **Exp Cell Res**, v. 180, n. 2, p. 303-313, 1989.

VAN DER MEULEN, J. H.; KUIPERS, H.; DRUKKER, J. Relationship between exercise-induced muscle damage and enzyme release in rats. **J Appl Physiol**, v. 71, n. 3, p. 999-1004, 1991.

VAN KOOYK, Y.; FIGDOR, C. G. Avidity regulation of integrins: the driving force in leukocyte adhesion. **Curr Opin Cell Biol**, v. 2, n. 5, p. 542-547, 2000.

VAN WIJICK, K. et al.. Aggravation of exercise-induced intestinal injury by Ibuprofen in athletes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 12, p. 2257-2262, 2012.

VERSTRAETEN, S. V. et al.. Effect of trivalent metal ions on phase separation and membrane lipid packing: role in lipid peroxidation. **Arch Biochem Biophys**, v. 338, n. 1, p. 121-127, 1997.

VINCKEN, J. P. et al.. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. **Phytochemistry**, v. 68, n. 3, p. 275-297, 2007.

WALLIMANN, T.; TURNER, D. C.; EPPENBERGER, H. M. Localization of creatine kinase isoenzymes in myofibrils. I. Chicken skeletal muscle. **J Cell Biol**, v. 75, n. 2, p. 297-317, 1977.

WALSH, N. P. et al.. Position Statement Part one: Immune function and exercise. **Exerc Immunol Rev**, v. 17, p. 6-63, 2011.

WALSH, T. P. et al.. Binding of aldolase to actin-containing filaments. Evidence of interaction with the regulatory proteins of skeletal muscle. **Biochem J**, v. 186, n. 1, p. 89-98, 1980.

WANG, B. H.; POLYA, G. M. Selective inhibition of cyclic AMP-dependent protein kinase by amphiphilic triterpenoids and related compounds. **Phytochemistry**, v. 41, n. 1, p. 55-63, 1996.

WANG, P. et al.. IL-10 inhibits transcription of cytokine genes in human peripheral blood mononuclear cells. **J Immunol**, v. 153, n. 2, p. 811-816, 1994b.

WANG, P. et al.. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. **J Biol Chem**, v. 270, n. 16, p. 9558-9563, 1995.

WANG, P. et al.. Interleukin-10 inhibits interleukin-8 production in human neutrophils. **Blood**, v. 83, n. 9, p. 2673-2683, 1994a.

WARREN, G. L.; LOWE, D. A.; ARMSTRONG, R. B. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. **Sport Med**, v. 27, n. 1, p. 43-59, 1999.

WARREN, G. L. et al.. Excitation-contraction uncoupling: major role in contraction-induced muscle injury. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 29, n. 2, p. 82-87, 2001.

WATSON, F.; ROBINSON, J. J.; EDWARDS, S. W. Neutrophil function in whole blood and after purification: changes in receptor expression, oxidase activity and responsiveness to cytokines. **Biosci Rep**, v. 12, n. 2, p. 123-133, 1992.

WATSON, T. A. et al.. Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 2, p. 63-71, 2005.

WHEATLEY, R. A. Some recent trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. **Tr Anal Chem**, v. 19, n. 10, p. 617-628, 2000.

WHO. World Health Organization. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. WHO technical Report Series 894. Geneva: WHO, 2000. 256 P. Disponível em: http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/. Acesso em: 07 dez. 2013.

WILLOUGHBY, D. S; MCFARLIN, B.; BOIS, C. Interleukin-6 expression after repeated bouts of eccentric exercise. **Int J Sports Med**, v. 24, n. 1, p. 15-21, 2003.

WINTERBOURN, C. C. Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. **Toxicol Lett**, v. 82-83, p. 969-974, 1995.

WINTERNITZ, M. C.; MELOY, C. R. On the occurrence of catalase in human tissues and its variations in diseases. **J Exp Med**, v. 10, n. 6, p.759-781, 1908.

WMA. WORLD MEDICAL ASSOCIATION. **WMA Declaration of Helsinki - Ethical principles for medical research involving human subjects**. World Medical Association, 2013. 8p. Disponível em: <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>. Acesso: Acesso em: 07 dez. 2013.

WU, C. R. et al.. Triterpenoid contents and anti-inflammatory properties of the methanol extracts of ligustrum species leaves. **Molecules**, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2010.

XU, G. H. et al.. Chemical constituents from the leaves of *Ilex paraguariensis* inhibit human neutrophil elastase. **Arch Pharm Res**, v. 32, n. 9, p. 1215-1220, 2009.

XIA, R.; STANGLER, T.; ABRAMSON, J. J. Skeletal muscle ryanodine receptor is a redox sensor with a well defined redox potential that is sensitive to channel modulators. **J Biol Chem**, v. 275, n. 47, p. 35556-365561, 2000.

XU, J. G.; HU, Q. P.; LIU. Y. Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers. **J Agric Food Chem**, v. 60, n. 46, p. 11625-11630, 2012.

YAGI, K.; MASE, R. Coupled reaction of creatine kinase and myosin A-adenosine triphosphatase. **J Biol Chem**, v. 237, n. 397-403, 1962.

YAMADA, M. et al.. Raised plasma G-CSF and IL-6 after exercise may play a role in neutrophil mobilization into the circulation. **J Appl Physiol**, v. 92, n. 5, p. 1789-1794, 2002.

YIN, M. C. et al.. Bioavailability, distribution, and antioxidative effects of selected triterpenes in mice. *J Agric Food Chem*, v. 60, n. 31, p. 7697-701, 2012

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

YU, J. G.; CARLSSON, L.; THORNEL, L. E. Evidence for myofibril remodeling as opposed to myofibril damage in human muscles with DOMS: an ultrastructural and immunoelectron microscopic study. ***Histochem Cell Biol***, v. 121, n.3, p. 219-227, 2004.

ZABLE, A. C.; FAVERO, T. G.; ABRAMSON, J. J. Glutathione modulates ryanodine receptor from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. Evidence for redox regulation of the Ca²⁺ release mechanism. *J Biol Chem*, v. 272, n. 11, p. 7069-7077, 1997.

ZARBOCK, A.; LEY, K. Protein tyrosine kinases in neutrophil activation and recruitment. ***Arch Biochem Biophys***, v. 510, n. 2, p. 112-119, 2011.

ZERBA, E.; KOMOROWSKI, T. E.; FAULKNER, J. A. Free radical injury to skeletal muscles of young, adult, and old mice. ***Am J Physiol***, v. 258, n. 3, p. 429-35, 1990.

ZHOU, H. et al.. Interleukin 6 augments mechanical strain-induced C-reactive protein synthesis via the stretch-activated channel-nuclear factor κ B signal pathway. ***Heart***, v. 99, n. 8, p. 570-576, 2013.

9 APÊNDICES

APÊNDICE A – Artigo publicado

PANZA V. S.; DIENFENTHAELER, F.; da SILVA, E. L. Benefits of dietary phytochemical supplementation on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage: is including antioxidants enough? **Nutrition**, v. 31, n. 9, p.1072-1082, 2015. Doi: 10.1016/j.nut.2015.02.014.

ABSTRACT

The purpose of this review was critically discuss studies that investigated the effects of supplementation with dietary antioxidant phytochemicals on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage (EEIMD). The performance of physical activities that involve unaccustomed eccentric muscle actions—such as lowering a weight or downhill walking—can result in muscle damage, oxidative stress, and inflammation. These events may be accompanied by muscle weakness and delayed muscle soreness (DOMS). According to the current evidences, supplementation with dietary antioxidant phytochemicals appears to have the potential to attenuate symptoms associated with EEIMD. However, there are inconsistencies regarding the relationships between muscle damage and blood markers of oxidative stress and inflammation. Furthermore, the effectiveness of strategies appear to depend on a number of aspects inherent to phytochemical compound as well as its food matrix. Methodological issues may also influence with the proper interpretation of supplementation effects. Thus, the study may contribute to updating professionals involved in sport nutrition besides highlighting the interest of scientists in new perspectives that can widen the dietary strategies applied to training.

Keywords: Phytochemicals. Eccentric exercise. Muscle damage. Strength loss. Delayed-onset muscle soreness. Oxidative stress. Inflammation.

Introduction

Eccentric muscle action involves the stretching of skeletal muscle while producing strength and serves primarily to slow down or halt a movement. This type of muscle action comprises a variety of movements typically present in exercises and daily activities, such as to lower a weight, step down a slope, or abruptly stop and change direction [1,2]. However, unaccustomed and repeated eccentric muscle actions may result in muscle damage, inflammation, and oxidative stress. These events are often accompanied by loss of muscle strength and a set of symptoms referred as delayed-onset muscle soreness (DOMS) [1-7].

After the so-called eccentric exercise-induced muscle damage (EEIMD) [2,5,8], muscle weakness and DOMS may last a few days (typically 5-7 days) and their magnitude is not exacerbated by effort repetition [3,4,6-8]. Nevertheless, among sportspeople, it is usual to search for strategies, including pharmacological ones, to alleviate muscle discomfort and impairment of performance quality. However, most of these resources are of controversial effectiveness, with some of them being potentially unfavorable to adaptive responses to training [5,6,8].

It has been proposed that the slow recovery of muscle strength and DOMS are partially due to the action of reactive molecules and/or inflammatory mediators released in the damaged muscle [9-11]. On the other hand, it is known that local changes in oxidation-reduction (redox) homeostasis and inflammatory events are part of the process of muscle repair and regeneration [5,8,11,2]. Despite the apparent paradoxes, the intake of antioxidant-rich food/beverages could have a positive effect on muscle recovery after exercise. Although there is no consensus on the benefits of antioxidant micronutrient supplementation [2], there are evidences that dietary phytochemicals with antioxidant and anti-inflammatory properties modulated muscle symptoms associated with EEIMD [2,13]. However, favorable effects were limited in other works [14,15], thus highlighting the importance of identifying specific phytochemical-based strategies that can actually improve muscle recovery after exercise [2]. Therefore, the purpose of this review was to critically discuss studies that investigated the effects of supplementation with dietary antioxidant phytochemicals on recovery from EEIMD.

Eccentric exercise-induced muscle damage: a sequence of events

The etiology of EEIMD has been long discussed. It has been proposed that it would result from excessive stretching and ruptures of myofibril filaments [1,4] or a failure in the excitation-contraction coupling system during muscle action [16]. However, there is controversy as to which of the mechanisms occurs initially, triggering subsequent damage [1]. In spite of that, considering the sequence of events, two natures of EEIMD stand out: the initial damage, related to the mechanical stress of contraction, and the secondary damage, related to later events of metabolic origin—i.e., loss of the intracellular calcium homeostasis, oxidative stress, and inflammation [1,9,16-18].

Figure 1 describes a proposed sequence of events following EEIMD, including inflammatory/oxidative responses as well as DOMs symptoms. Muscle weakness seems to be the most immediate functional consequence of EEIMD [1,8,18]. After a fast recovery within 2-3 h after exercise, muscle strength restores gradually and may remain depressed for a few days or even weeks, depending on the degree of the damage [3,4,8,14]. Throughout this period, structural damage may progress, together with inflammatory events that precede tissue repair and regeneration [8,11,12,19].

The mechanisms involved in the secondary muscle damage are unclear. Some argue that, in the process of removing tissue fragments, metabolic products from activated phagocytes, including reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS), would occasionally reach intact structures and, thus, contribute to additional damage and delayed recovery of muscle strength [9,11,18,19]. In addition, EEIMD is frequently followed by DOMS, which intensity of discomfort usually peaks between 24-72 h post-exercise [6,7]. DOMS symptoms may include pain, tenderness, swelling, and stiffness [1,6,7,9] and despite being discussed for decades, they are not completely understood yet. Pain and tenderness would be triggered by the presence of locally released chemicals [4], by the sensitization of muscle nociceptors by tissue breakdown products [1], or by the activation of inflammatory factors present in the epimysium prior to exercise [10]. Muscle swelling would result from fluid accumulation related to the inflammatory response that follows the damage [1,4,6]. Stiffness has been attribute to the swelling of damage tissue and/or local contratures, elicited by an increase in myoplasmic calcium concentration, as a result of damage to

membrane systems and/or by stretched-activated calcium release [1,4,7] (Fig. 1).

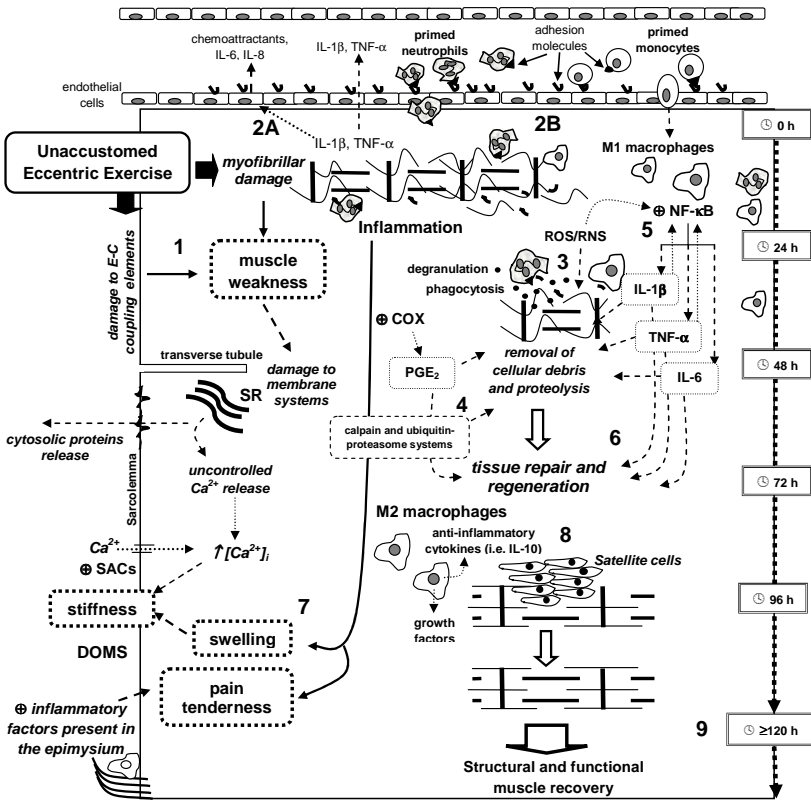


Fig.1. Proposed sequence of events following eccentric exercise-induced muscle damage. 1. Initial eccentric damage (i.e., myofibrillar and/or to E-C coupling elements) results in an immediate decrease in muscle strength, which can lead

to membrane damage, as indicated by increased efflux of cytosolic proteins and uncontrolled Ca^{2+} release from the sarcoplasmic reticulum [1,8]; **2A.** Damaged muscle fibers release IL-1 β and TNF- α proinflammatory cytokines that activated endothelial cells, which in turn express cell surface adhesion molecules, release chemoattractants and proinflammatory cytokines (e.g., IL-6, IL-8); **2B.** All those inflammatory mediators may prime and/or attract phagocytic cells towards the injury site [11,12,19]; **3.** In the first few hours after injury, neutrophils and monocytes/M1 macrophages progressively accumulate in the exercised muscle, reaching their peak concentration at about 24 and 48 h postinjury, respectively, and then declining in number [3,8,19]. At the injury site, those cells help to remove and degrade damaged tissue by engulfing cellular debris and releasing proteases, inflammatory cytokines, and reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) [8,11,12,19]; **4.** Proteolytic systems promote the degradation of myofibrillar proteins [8]. **5.** ROS/RNS may lead to activation of NF- κ B that can mediate the expression of inflammatory cytokines, which may in turn induce further NF- κ B activation [11,12,19]; **6.** Despite contributing to the early inflammatory stages after injury, some molecules (such as IL-1 β , IL-6, TNF- α , and PGE₂, as well as NF- κ B) seem to play important roles in muscle regeneration and remodelling [8,11,19]; **7.** Muscle damage may also be followed by DOMS that seems to be associated with a rise in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ and/or muscle inflammation; **8.** After reaching their peak level, M1 macrophages are replaced by nonphagocytic M2 macrophages, whose concentration peaks at about 96 h and may remain elevated for several days postinjury [3,11,19]. M2 macrophages release anti-inflammatory cytokines and growth factors and can contribute to tissue repair and regeneration [11,19]. Proliferation of satellite cells is involved in muscle regeneration process [8,19]; **9.** The time to the full recovery of the muscle depends on the severity of the initial damage.

E-C, excitation-contraction; SR, sarcoplasmic reticulum; ROS/RNS, reactive oxygen and nitrogen species; IL, interleukin; TNF- α , tumor necrosis factor alpha; COX, cyclooxygenase; PGE₂, prostaglandin E2; NF- κ B, nuclear factor kappa B; CK, creatine kinase; DOMS, delayed-onset muscle soreness; SACs, stretched-activated calcium channels; $[\text{Ca}^{2+}]_i$, intracellular calcium concentration.

Characteristics of the studies selected for discussion and critical analysis of methodological aspects

Table 1 shows a descriptive summary of 14 studies—published between 2003 and 2014—that investigated the effect of dietary phytochemicals supplementation on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise [2,13-15,20-29]. A work involving eccentric training [30] (not included in Table 1) was also discussed. Among the studies, six were crossover trials [2,13,21,25,27]

and ten were parallel fashion studies [14,15,20,22-24,26,28,29]. All examined studies, excepting two [20,26], were randomized and placebo-controlled, and of these, 71% were double-blind [14,15,21-25,27-29] thus meeting the main criteria of the gold standard for the evaluation of interventions [31].

Characteristics of the subjects

The age range of the participants in the discussed studies was 18-35 years. One study included only woman in the sample [2], while four [14,15,23,27] evaluated subjects of both sexes. In this context, it is important to point out that there may be sex differences regarding the responses to EEIMD. After eccentric exercise, women may show a higher deficit in muscle strength and lower increase in serum creatine kinase (CK) [32] and muscle soreness than men [33]. In addition, hormonal fluctuations during the menstrual cycle may influence the maximum voluntary force production [34], thus suggesting that information concerning the menstrual cycle of the female participants, during the experimental protocol, may be relevant. McLeay et al. [2] standardized the menstrual cycle phase during which women performed the eccentric exercise. However, in studies that evaluated men and women [14,15,23,27], there was no consideration about controlling variables that might be influenced by sex or about potential limitations of the results in this regard. These methodological issues might have led to biased interpretations of the effects of exercise/phytochemical on the assessed markers of muscle damage.

Training status may have important effects on muscle damage, inflammation, and oxidative stress markers [3,8,30,35]. Adaptive responses can be observed after a single bout of eccentric exercise, and the magnitude of the damage is not increased by effort repetition—a phenomenon known as the 'repeated bout effect' [3,7]. Thus, the homogeneity of the participants' physical activity level may contribute to the accurate interpretation of the observed results. For instance, muscle leukocyte infiltration after eccentric exercise was higher in sedentary subjects compared with physically active or very active subjects not engaged in strength training or other high-force activities [3]. In most studies assessed for this review, the participants were physically active and not trained in resistance training exercises [13-15,20,21,24,26-28,30] or, conversely, experienced in resistance training and/or aerobic exercises [2,25,30]. However, in one study [22], subjects were inexperienced in resistance training, but their level of physical

activity ranged from sedentary to recreationally active. Black et al.. [23] excluded potential participants involved in moderate to high-intensity resistance training, but did not clearly report the level of physical activity of the selected sample. Therefore, in these studies [22,23], a large diversity in physical activity level among the participants might have influenced the magnitude of muscle damage and, thus, the effects of the supplementation.

m

11 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
13] M (n=14) 22.0±4.0 yr	Tart cherry juice (350 mL, 600 mg total phenolic ⁵) or PLA, 2x/day for 8 days	3 rd day of treatment) 40 (2x20) MEMA of the elbow flexors; ROM: 130°-0°	Pre- and 24, 48, 72, and 96 h post-exercise	MIS: <↓ with SUPL vs PLA from 24 to 96 h [≠] PMP: < with SUPL vs PLA [≠] ROM (elbow): ↓ ≡ between groups from 24 to 96 h MT: ↑ ≡ between groups from 24 to 96 h
acid 21] M (n=16) 24.2±1.4 yr	Pomegranate extract drink (500 mL, 630 mg total phenolics ⁷) or PLA, 2x/day for 9 days	5 th day of treatment) 40 (2x20) MIEMA of the elbow flexors (40°·s ⁻¹); ROM: 120°-0°	Pre- and 2, 24, 48, 72 and 96 h post-exercise	MIS: <↓ with SUPL vs PLA at 48 and 72 h PMP: < with SUPL vs PLA drink at 2 h CK ⁶ : ↑ ≡ between groups from 2 to 7 h Mb ⁵ : ↑ ≡ between groups from 2 to 7 h IL-6 ⁶ and CRP ⁶ : ↔

Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after exercise in human. (Continued)

Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
M (n=30) 18-25 yr	Quercetin (1000 mg) via energy bar, vitamin C (20 mg), and vitamin E (4 mg) (n=15) or PLA (n=15); 1x/day for 13 days	8 th day of 48 (2x24) NEMA of the elbow flexors; ROM: 120°-0°	Pre- and 0 h (MIS), 24, 48, 72, 96, and 120 h post-exercise	MIS: ↓ between groups from 0 to 120 h PMP: = between groups from 24 to 96 h ROM (elbow): ↓ between groups from 24 to 96 h AC: ↑ between groups from 24 to 120 h CK: ↑ between groups from 48 to 120 h IL-6; CRP ⁶ ; ↔

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
Idifant J. [14]	M (n=26) F (n=15) 18-35 yr	Juice Plus [®] (fruit, vegetable, and berry juice powder concentrates) (n=21) or PLA (n=20); 6 capsules/day for 32 days The daily serving of Juice Plus [®] provided 180 IU vitamin E, 276 mg vitamin C, and 7.5 mg β-caroten.)	(29 th day of treatment) 48 (4x12) MIEMA of the elbow flexors (20° s ⁻¹); ROM: 100°-0°	Pre- and 0, 2, 6, 24, 48, and 72 h post-exercise	MIS: ↓≠ between groups from 0 to 72 h PMP: ≡ between groups from 24 to 72 h ROM (elbow): ↓≠ between groups from 0 to 72 h CK ^b : ↑≠ between groups from 24 to 72 h MDA ^b : ↑ with PLA vs pre- from 24 to 72 h ^f Protein carbonyls: ↑ with PLA vs pre- from 6 to 72 h ^f GSSG/TGSH ^d : ↑≠ between groups at 0 h; ↑ with PLA at 6 h

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
Black et al. [23]	Supplement group: M (n=3) F (n=14) 20.9±0.6 yr	Raw ginger (2 g) 73 mg/g gingerol and 2.2 mg/g shogaol) or PLA; 1x/day for 11 days	8 th day of treatment) 18 (3x6) NEMAs of the elbow flexors; 121% of the :ROM through a full ROM	Pre- and 24, 48, and 72 h post-exercise	MCS: ↓ between groups from 24 to 72 h PMP: < with SUTL at 24 h ROM (elbow): ↓ between groups from 24 to 72 h Arm volume: >↑ with SUTL vs PLA from pre- to 72 h ^f PGE ₁ : ←
	PLA group: M (n=3) F (n=14) 21.1±0.7 yr				

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
Phillips et al [24]	M (n=40) 18-35 yr	Quercetin (200 mg), hesperidin (100 mg), DHA (800 mg), vitamin E (300 mg) (n=20) or PLA (n=20); 1x/day for 14 days	(7 th day of treatment) 60 (3x10) EMA of the elbow flexors; 80% of the eccentric 1-RM	Before treatment pre- and 72 (baseline), pre- and 72 and 168 h post-exercise	PMP: \approx between groups at 72 h ROM (elbow): \downarrow \approx between groups at 72 h CK ⁶ and LD ⁶ : \uparrow \approx between groups at 72 h ALT ⁶ , AST ⁶ : \uparrow \approx between groups at 72 and 168 h IL-6 ⁶ : $<\uparrow$ with SUPL vs PLA between pre- and 72 h CRP ⁶ : $<\uparrow$ with SUPL vs PLA between baseline and 72 h
Connor et al [15]	M (n=20) F (n=20) 18-35 yr	Grape powder (46g, 1.76 mg total phenolics ⁶) diluted with water (n=20) or PLA (n=20); 1x/day for 45 days	(43 rd day of treatment) 18 (3x6) MEMA of the elbow flexors; 120% of the concentric 1-RM	Pre- and 24 and 48 h post-exercise	MIS: \downarrow \approx between groups from 24 to 48 h PMP: \leftrightarrow ROM (elbow): \leftrightarrow Arm volume: \leftrightarrow

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
Trombold et al. [25]	M (n=16) 21.9±2.4 yr	Pomegranate extract drink (250 mL; 1979 mg/L tannins, 384 mg/L anthocyanins, and 121 mg/L ellagic acid derivatives) or PLA; 2x/day for 15 days	8 th day of treatment) 60 (3x20) MIEMA of the elbow flexors (40° s ⁻¹); through a full ROM	Pre- and 2, 24, 48, 72, 96, and 168 h post-exercise	(elbow flexors) MIS: <↓ with SUPL vs PLA from 2 to 168 h ^f PMP: <with SUPL vs PLA from 2 to 168 h ^f and during 48 to 72 h ^f (knee extensors) MIS: ↓= between groups from 2 to 168 h PMP: = between groups from 2 to 72 h

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
Wassick et al. [20]	M (n=30) 20.0±1.8 yr	EGCG® (1800 mg: 98% total phenolics ³ and 50% EGCG) (n=10), NAC (1,800 mg) (n=9), or PLA (n=10); 1x/day for 14 days before exercise	100 (10x10) MIEMA of the knee extensors (30° s ⁻¹); ROM: 0°-80° of knee flexion	Pre- and 6 and 24 h post-exercise	mRNA levels for MURF1, UBE3B, and m-calpain ⁶ ; ↑≡ between the EGCG, NAC, and PLA groups at 6 and 24 h
Wassick et al. [26]	M (n=30) 20.0±1.8 yr	EGCG (1800 mg: 98% total phenolics ³ and 50% EGCG), NAC (1,800 mg), or PLA; 1x/day for 14 days before exercise	100 (10x10) MIEMA of the knee extensor (60° s ⁻¹); ROM: 0°-80°	Pre- and 6, 24, 48, and 72 h (except for biopsy)	MIS: ↓≡ between groups at 6 and 24 h PMP: ≡ between groups at 6, 48, and 72 h; < with the EGCG and NAC groups compared with PLA at 24 h CK ^c : ↑≡ between groups from 6 to 48 h LD ^c : ↑ ≡ between groups at 6 h 8-isoprostane ⁵ ; ↔; SOD ^c : ↔ TNF-α ^c : ↔

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
McLeay et al [2]	F (n=10) 22.0±1.0 yr	Blueberry-based beverage (blueberry, banana, and apple juice; 168 mg total phenolics ^a) or PLA (banana and apple juice; 29 mg total phenolics ^b); 10 and 5 h before and 0, 12, and 36 h post-exercise (n=10)	300 (3x100) MEIMA of the knee extensor (30° s ⁻¹); ROM: 0°-60°	Pre- and 12, 36, and 60 h post-exercise	MIS: <↓ with SUPPL vs PLA from 12 to 36 h [§] PMP: ≡ between groups from 12 to 60 h CK ⁺ : ↑≡ between groups from 12 to 36 h Plasma radical ROS-generating potential: ↑≡ between groups from pre- to 12 h; ↓ with SUPPL vs PLA from 12 to 60 h [§] Protein carbonyls ^b : ↑≡ between groups from pre- to 12 h; ↓≡ between groups from 12 to 60 h FRAP ^b : ↑ with SUPPL vs PLA from pre-treatment to 60 h post-exercise [§] IL-6 ^b : ↑≡ between groups from 12 to 60 h

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
Udani et al. [27]	M (n=5) F (n=5) 27.7±8.0 yr	BounceBack [®] or PLA; 2 capsules/d for 30 days before exercise (n=10)	Maximal number of quadriceps squat in a 5 min period	Pre- and 0 (except for PMP), 6, 24, 48, and 72 h post-exercise	PMP: < with SUPL vs PLA at 6 and 48 h MT: < with SUPL vs PLA at 24 h CK: and Mb: ↑ in both groups from pre- to 72 h, but trended to be lower with BounceBack [®] vs PLA from 24 to 72 h IL-6 ^b , TNF-α ^b , and CRP ^b : ↔
		The daily serving of BounceBack [®] provided 421 mg turmeric extract (curcumin-rich), 90 mg phytosterols, 6 mg Japanese knotweed extract (20% resveratrol), 20 mg vitamin C, and 258 mg prozeas			

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Continued)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
Machin et al. [28]	M (n=15) 22.3±4.1 yr	Pomegranate juice concentrate (30 ml, 650 mg total phenolic ¹) diluted with water and/or PLA for 8 days Supplementation groups: -(1x) pomegranate juice 1x/day and PLA 1x/day -(2x) pomegranate juice 2x/day -PLA 2x/day	(4 th day of treatment) 10 sets downhill running (-10% grade) at 200 min ⁻¹ (2 min per set) followed by bilateral MEMA of the elbow flexors, 100% of the concentric 1-RM; ROM: 130°-0°	Pre- and 2, 24, 48, and 96 h post-exercise	(knee extensors) MIS: <↓ with 1x and 2x SUPL vs PLA from 24 to 96 h ^f PMP: ≡ between 1x, 2x SUPL and PLA from 2 to 48 h (elbow flexors) MIS: <↓ with 1x and 2x SUPL vs PLA from 24 to 96 h ^f PMP: ≡ between 1x, 2x SUPL and PLA from 2 to 48 h Mb ² : ↑≡ between 1x, 2x SUPL and PLA at 2 h

Table 1 - Effects of dietary phytochemical on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers after eccentric exercise in human. (Conclusion)

Study	Subjects	Groups of treatment	Eccentric exercise	Sampling time points	Main results
Drobnic et al. [29]	Supplement group: M (n=9) 32.7±12.3 yr	Phytosome [⊗] (1 g) or PLA, 2x/day for 4 day The daily serving of Phytosome [⊗] provided 200 mg curcumin	(3 rd day of treatment) 45 min downhill running (~10% grade) at the anaerobic threshold	Pre- and 2 h and 24 h post-exercise (except for PMP)	PMP (lower limbs): < with SUPL vs PLA at 48 h CK: ↑= between groups from pre- to 24 h FRAP: ↔ Catalase: ↔ Glutathione peroxidase: ↔ CRP: ↑= between groups from pre- to 24 h IL-8: ↑ with PLA vs pre- at 2 h

M, males; F, females; PLA, placebo; SUPL, supplement; MEMA, maximal eccentric muscle actions; MIS, maximal isometric strength; 1-RM, one-repetition maximal; PMP, perceived muscle pain; ROM, range of motion (position 0°=full limb extension); MT, muscle tenderness; AC, arm circumference; CK, creatine kinase; Mb, myoglobin; AST, aspartate aminotransferase; LD, lactate dehydrogenase; ALT, alanine aminotransferase; IL, interleukin; TNF- α , tumor necrosis factor α ; CRP, C-reactive protein; MDA, malondialdehyde; SOD, superoxide dismutase; FRAP, ferric-reducing ability of plasma; GSH, reduced glutathione; GSSG, oxidized glutathione; TGSE, total glutathione; ROS, reactive oxygen species; NO[•], nitric oxide; EGGG, epigallocatechin-gallate; NAC, N-acetyl-cysteine; DHA, docosahexaenoic fatty acid; PGE₂, prostaglandin E₂; ↔, no change; ^aexpressed as gallic acid equivalents; ^bplasma; ^cserum; ^dblood; ^emuscle; ^ftreatment effect; ^gtime effect; ^xtreatment effect.

Dietary intake assessment

Although 50% of the analyzed studies have established the use of nutritional supplements as an exclusion criterion [14,20,21,24-26,30]; only 29% assessed current or usual intake through food frequency questionnaire [15], dietary record [2], or 48-h food recall [20,26]. In one study, the diet was standardized during the experimental period [2,27], while in another one, lists of antioxidant-rich food, whose consumption should be avoided during the research, were provided [2]. Knowledge/control of dietary intake allows exploring the effectiveness of the antioxidant treatment administrated [2]. However, the intentional restriction of antioxidant-rich food throughout the study must be careful at the risk of the effects of the strategy becoming conditioned to situations of antioxidant-poor diets.

Characteristics of the supplements

Regarding the treatments (Table 1), the forms of phytochemicals supplementation were drinks based on fresh fruit [2,13], dried fruit powder [15] or fruit extract [21,25,28], capsules with vegetable and fruit [14] or dried rhizome [23] concentrates; capsules with plant extracts [27,29-30]; energy bar added of isolated phytochemicals [22]; and capsules of isolated phytochemicals, whether combined [24] or not [20,26] with other substances. Table 2 shows the classification of the major phytochemicals present in the treatments [36]. All supplements contained at least one type phenolic compound. Most of the treatments contained phenolic compounds belonging to the class of flavonoids [2,13-15,20,22,24,26,30]. In three studies, the supplements were rich in hydrolyzable tannins [21,25,28]. Other classes of phenolic compounds (i.e. stilbenes [15,27], curcuminoids [27,29], phenyl alkanones [23], and phenylpropanoids [30]) were also found. In only one study, the supplement included sterols compounds [27].

In general, the daily amounts of phytochemicals supplied by the treatments seem to have been significant. For instance, the daily polyphenol intake in the Spanish diet was recently estimated between ~2600-3000 mg/person/day [37]. In the three studies where participants were given drinks made with fresh or powdered fruit, the supplementations corresponded to the daily intake of 800 g of blueberry [2], 100-120 units of cherries [13], and 253 g of grape [15]. The daily intake ratios of polyphenols provided by the treatments amounted to 26.0% [2], 46.0% [13], and 8.0% [15] of the Spanish daily intake [37]. Concerning the pomegranate-based supplementations, the ratios of daily polyphenol intake were 25% [28] and 50% [21,25] of the Mediterranean diet [37]. Therefore, the use of strategies with phytochemical-rich foods might contribute significantly to the sportspeople's daily intake of polyphenols.

Table 2 - Classification of major phytochemical compounds present in the supplementations used in the studies.

Group/class	Subclass	Phytochemicals ^a	Studies
Phenolic compounds:			
Flavonoids	Catechins	Catechin, epicatechin	[15]
		Epigallocatechin-gallate	[20,26]
		Quercetin	[15,22,24]
	Anthocyanins	Peonidin, cyanidin, malvidin, pelargonidin	[2,13-15]
	Flavonones	Hesperitin	[24,30]
	Flavones	Luteolin	[30]
Stilbenes		Resveratrol	[15,27]
Fenolic acids	Hydroxycinnamic acids	Chlorogenic, cumaric, caffeic, and ferulic acids	[2,13,14]
Hydrolyzable tannins		Ellagitannins	[21,25,28]
Curcuminoids		Curcumin	[27,29]
Phenyl		Gingerol (s)/	[23]

alkanones		Shogaol (s)	
Phenylpropanoids		Verbacoside	[30]
Phytosterols:	Terpene	Beta-sitosterol, campesterol, stigmasterol	[27]

Reference [36] was also consulted.

Eccentric exercise protocols and muscle damage markers employed

The exercise protocol is a primary determinant of the magnitude of EEIMD [1,8]. For example, a larger degree of damage seems to be elicited by single joint, maximal eccentric exercises across a large joint range of motion (ROM) than downhill running at ~ -8% grade [8]. Almost 80% of the studies used single joint maximal eccentric muscle actions, mostly employing the elbow flexor muscles (Table 1). Moreover, differences concerning number of repetitions performed, velocity of movement, or muscle group studied, for instance, could also explain, at least in part, the diversity of changes observed in the markers of muscle damage, regardless of the treatments used (Table 1). Thus, it appears that the effectiveness of a phytochemical supplement may depend on the eccentric exercise performed.

The most commonly muscle damage marker used in the studies was muscle pain [2,13-15,20-29], followed by concentration/activity of circulating cytosolic proteins, mostly CK [2,12,21,21,22,24,25,29-30], and muscle strength [2,13-15,21-23,25,26,28]. Six studies used the measurement of ROM for evaluating muscle stiffness [13-15,22-24]. In five studies, limb volume/circumference was measured for estimating of the swelling [13,15,23,24]. Muscle tenderness to palpation was assessed in two studies [13,27], while only one study evaluated the expression of genes related to muscle proteolysis [20]. This latter variable is not usually used as muscle damage marker [20] but is likely involved with the recovery from EEIMD [38].

Despite the variety of measurement tools currently used in the study of EEIMD [39], the muscle function measured as force-generation capacity has been considered the most reliable and valid marker of the magnitude of muscle damage [8,39]. Other markers of muscle damage—e.g., DOMS, ROM, and concentration of circulating cytosolic proteins—may not always show a good correlation with the muscle

functional change after injury [39]. Therefore, caution is necessary in interpreting the results concerning the effects of phytochemical treatment on EEIMD obtained from the use of these indicators.

Effects of the dietary antioxidant supplementations on muscle damage, oxidative stress, and inflammation markers

According to the results of biochemical and muscle damage markers, benefits were reported for most fruit-based [2,13,21,25,28] and plant extracts/rhizome-based [23,27,29-30] drinks. In these studies, the positive results were attributed mainly to the antioxidant/anti-inflammatory properties of the phytochemicals in the supplements. However, the effects of the interventions on muscle damage markers were not always in agreement with the changes in blood oxidative stress and/or inflammation indicators after exercise [2,14,22,30]. For example, favorable profiles of muscle damage and blood oxidative stress markers were observed after supplementation with cherry [13] or blueberry-based drinks [2]. Both cherry and blueberry are rich in anthocyanins which are known for their superior antioxidant/anti-inflammatory potential [39]. Nevertheless, supplementation with vegetable/fruit concentrate, including anthocyanin-rich berries, did not influence muscle damage markers, although it improved blood oxidative stress markers [14]. Likewise, consumption of grape-based drink—rich in several phytochemicals, including anthocyanin—did not affect any marker of muscle damage [15] (Table 1). It was proposed that the inefficacy of treatment on muscle damage markers might have resulted from the decrease in biological activity of the bioactive compounds due to the intestinal/liver metabolism of these compounds [15,22], from their interaction with other food constituents, or because they might have been quantitatively insufficient in the target tissues to bring benefits to the muscle damage [15].

Together, these studies suggest that certain situations, such as EEIMD, factors inherent in the food matrix/plant extracts (e.g., nature, amount and metabolism of phytochemicals, and their interactions) [36,37,40] may influence on treatment effectiveness. The presence of bioactive, non-phytochemical compounds might also contribute to the positive effects of supplementation [2,40]. However, this interaction is probably complex and might not always be useful [40]. For instance, the combined supplementation of quercetin, vitamin E, and docosahexaenoic fatty acid did not affect changes in muscle damage markers [24].

Muscle strength

Among the studies that investigated the effects of phytochemical supplementation on muscle strength recovery from EEIMD, positive results were only observed with cherry [13], blueberry [2] or pomegranate-based [21,25,28] drinks (Table 1). In these studies, the daily polyphenol amount in the supplements ranged from 650 to 1300 mg. The intake of lower doses might partially explain the lack of benefits of other interventions [15]. The consumption of ~180 mg/day of polyphenols of grape juice did not influence the recovery of elbow flexion muscles strength in subjects who did not regularly participate in intense physical exercise [15]. However, pomegranate juice intake providing 650 mg or 1300 mg/day of polyphenols improved the recovery of elbow flexor [21,28] and knee extensor [28] muscles strength in subjects not involved in resistance training. Conversely, in resistance trained subjects, pomegranate juice consumption providing 1300 mg/day of polyphenols improved strength recovery of the elbow flexor muscles but not of the knee extensor muscles, although both had performed the same exercise volume [25]. The authors proposed that the more prominent strength loss in the upper limbs compared with that in the lower limbs might have favored the therapeutic potential of supplementation and that this difference could be related to inherent characteristics of the knee extensor muscles—i.e., potential protective effect of daily use pattern—or to the inadequate loading during eccentric exercise [25]. Thus, in these studies [15,21,25,26], the effectiveness of supplementation in muscle recovery appears to have been influenced by different factors, including the daily amount of polyphenols supplied, the muscle group studied, the exercise protocol employed, and/or the participants' training status.

Additionally, intrinsic properties of the food matrix may also influence the effect of treatment on muscle recovery. The intake of blueberry-based drink resulted in a faster muscle strength restoration than placebo with similar antioxidant capacity [2]. According to the authors, the positive effect of blueberry on strength recovery did not depend on the beverages inherent antioxidant properties, and other relevant biological activities of anthocyanins (e.g., modulation of gene transcription) might be involved in the benefits of supplementation [2]. However, there is also the possibility that the strategy's effectiveness resulted from interactions between anthocyanins and one or more

bioactive constituents present in the blueberry, thus making the effect unique to the food and not to specific phytochemicals [40].

Delayed-onset muscle soreness and muscle proteolytic gene expression

In several of the studies, there was a certain temporal relationship between DOMS and muscle weakness from 24 to 72 h post-exercise [2,13,14,21-23,25,26,28]. However, the effects of supplementation on DOMS symptoms were not consistent [2,14,22,26,28] which seem to agree with the limitations of DOMS for quantifying muscle damage [8, 39] (Table 1).

The muscle pain was attenuated with cherry juice [13] as well as with capsules of raw ginger [23] and supplements containing curcumin [27,29]. Conversely, although rich in anthocyanins, the blueberry-based drink did not affect muscle pain [2], suggesting a potential influence of the food matrix [39] on the strategy's effectiveness on a specific symptom of DOMS. Supplementation with isolated catechins [26] or pomegranate-based drinks [21,28] promoted only a slight improvement or no improvement at all in muscle pain. It was assumed that the measure of perceived pain in the elbow flexor muscles may not have been sensitive enough to detect subtle benefits of supplementation, or that the amount of muscle mass that suffered DOMS was small [21]. However, in a later work involving the same muscle group (elbow flexors) and treatment, but with a higher number of eccentric muscle actions, the same authors observed a lower muscle pain with pomegranate drink 48 and 72 h post-exercise [25]. It is noteworthy that, although both studies [21,25] evaluated the elbow flexor muscles, in the placebo trial, strength loss 2 h post-exercise was 8% higher in the second study [25], thus suggesting an influence of the exercise protocol in inducing DOMS and possibly on treatment effectiveness. As for muscle tenderness, only supplementation with turmeric extract, phytosterols, and resveratrol [27] promoted a brief improvement. Interestingly, raw ginger treatment resulted in significant larger arm volume than the placebo before and at all time points after exercise. Nevertheless, it appeared that the effect of supplementation did not show a high practical significance—i.e., effect sizes $>.80$ SD [23].

Elbow ROM and arm volume/circumference were not affected by supplementations despite they have changed in temporal agreement with the remaining muscle damage markers [13-15,20,22-24] (Table 1). According to Connolly et al. [13], the ineffectiveness of cherry juice in elbow ROM and muscle tenderness might indicate that the

measurements were insensitive to actual differences between supplement and placebo. The authors assumed that the tenderness measurement made only at one site may and/or the use of a small muscle group during eccentric exercise may have been limiting factors. As to elbow ROM, they suggested that a more damaging eccentric exercise protocol or a large sample size may be required to evaluate the effect of cherry juice intake on this damage marker.

The degradation of damaged myofibrils after eccentric exercise are associated with the activation of proteolytic complexes, such as ubiquitin-proteasome system (Fig. 1). There is evidence that ROS upregulate the expression of ubiquitin pathway genes in skeletal muscle [41]. However, neither the flavonoid epigallocatechin-gallate (EGCG) nor the antioxidant non-phytochemical compound N-acetyl-cysteine (NAC) affected the increase in intramuscular expression of ubiquitin genes after eccentric exercise [20] (Table 1). It was assumed that the discontinuity of treatment after the eccentric exercise bout may have prevented that serum and tissue concentrations of EGCG and NAC had remained in effective levels. It was also proposed that the bioavailability of EGCG and NAC limited the amount of antioxidants delivered to tissues [20].

Circulating cytosolic proteins

The amount of circulating cytosolic proteins increased significantly after eccentric exercise in all studies assessing this type of marker [2,14,21,22,24,26-29] (Table 1). Apparently, this highlights the reliability and validity of this measure as a muscle damage indicator. Nevertheless, in some of these works, the increase in circulating cytosolic proteins occurred regardless of the improvement in muscle strength recovery promoted by supplementation [2,21,28]. Therefore, measurement of cytosolic proteins may not always clearly reflect the amount of induced-exercise muscle damage [8,39] and/or treatment effects. However, another interpretation could be that the phytochemical-based strategy failed in reducing changes in permeability of sarcolemmal membrane (Fig. 1) despite having attenuated the secondary myofibrillar damage induced by eccentric exercise.

The activity/concentration of circulating cytosolic proteins may be influenced by different factors, including their plasmatic removal, inter-individual variability, hydration status, exercise protocol, and training status [39,42]. Plasma CK activity, in especial, can be improved by the concentration of reduced glutathione (GSH) in the blood. GSH

protects against oxidation of the thiol (—SH) groups of CK, preventing the enzyme inactivation [43]. It was observed that supplementation with shiitake mushroom extract increased plasma CK activity and improved thiol redox status before exercise [44]. Shiitake mushroom produces L-ergothioneine amino acid, which is capable of neutralizing reactive species and interacting with enzymes associated with the glutathione system [44]. Therefore, improvements in blood thiol status promoted by phytochemical-based supplementation [14] might influence on CK response during recovery from EEIMD.

Funes et al. [30] investigated the effects of lemon verbena extract supplementation (1800 mg/day, 10% verbascoside) on responses of cytosolic proteins in the serum to eccentric training (downhill running, 90 min/day for 21 days). The supplementation occurred during training period. In the placebo group, the levels of CK and myoglobin were not affected by training, which probably reflected the prior participants' training status (moderately trained) [30]. However, the supplementation reduced the initial values of the activities of aspartate aminotransferase and γ -glutamyltransferase and prevented the increase in alanine aminotransferase activity. Therefore, despite the limitations of these markers concerning muscle damage [39], together these results do not rule out the possibility of phytochemical-rich food providing cell protective effects over a period of eccentric training.

Blood oxidative stress markers

It has been assumed that the primary mechanism for muscle weakness, muscle pain, and membrane integrity damage would be unrelated to blood markers of oxidative stress following eccentric exercise and, thus, the levels of oxidative stress markers in the blood may not be good indicators of EEIMD [14]. In other words, blood oxidative stress markers may not always reflect the muscular redox dynamics after eccentric exercise [14,45].

Nevertheless, improvement in antioxidant potential and/or protection against oxidation of lipids and proteins in plasma were observed with blueberry-based drink [2] and vegetable/berry fruit concentrate [14] (Table 1). However, the antioxidant effects may have been partially dependent on the protocol of treatment. According to Goldfarb et al. [14], vegetable/berry fruit concentrate prevented the rise in protein carbonyls and malondialdehyde levels from 2 to 72 h post-exercise. With blueberry-based drink [2], plasma total antioxidant potential increased significantly between the pretreatment and the 60 h post-exercise time point. However, there was a significant increment

plasma ROS-generation potential from pre to 12 h post-exercise, which was followed by an increased in protein carbonyls level similarly to placebo. Thereafter, plasma ROS-generation potential fell significantly up to 60 h post-exercise only with blueberry drink. Over this time period, protein carbonyl level also decreased but there was no significant difference between conditions. It is possible that the lack of an early antioxidant protection with blueberry drink could be in part explained by the short period (~10 h) of pre-exercise supplementation. The vegetable/berry fruit concentrate was provided over 28 days before exercise, which probably promoted the required tissue and plasma saturation [36]. However, differences in the physiological/metabolic responses to the exercise protocols used—i.e., upper limbs [14] versus lower limbs [2]—cannot be ruled out.

In the previously mentioned study [30], lemon verbena extract prevented the increase in neutrophils' protein carbonyls and malondialdehyde levels and attenuated the activation status of these cells (decreasing the myeloperoxidase activity, a peroxide detoxifying enzyme) after a three-week eccentric training. The authors concluded that this might represent a protective effect against oxidative stress in neutrophils.

Circulating inflammatory markers

The successful resolution of muscle damage—i.e., optimal degradation of damaged structures and tissue reconstruction—depends partially on the balance between signaling and pro- and anti-inflammatory actions [35,11]. However, the relationships between EEIMD and systemic inflammatory mediators responses are not always clear. Factors such as type of effort, training level, time of blood sampling, and alterations in the pool of circulating cytokines may influence these associations [46]. Of the nine studies evaluating blood inflammation markers, only four observed an influence of exercise, especially in IL-6, IL-8 and C-reactive protein (CRP) [2,21,20-24,26,27,29] (Table 1). The absence of effects of eccentric exercise on inflammatory markers was attributed to type of protocol used [22], sample size [27], the possibility of these serum markers not reflecting inflammation under these experimental conditions, and/or lack of inflammation [21]. It is interesting that all nine studies reported evidences of muscle damage.

The importance of IL-6 response in exercise has been associated mainly with its metabolic and anti-inflammatory effects, although it also has inflammatory actions [47]. McLeay et al.. [2] pointed out that there

is controversy that the increase in circulating IL-6 concentration correlates with skeletal muscle damage. Nevertheless, IL-6 seems to play an important role in muscle differentiation and growth [19]. IL-6 stimulates the release of CRP and IL-10 [48,49]. Similarly to IL-6, CRP has anti-inflammatory and inflammatory properties; for example, it facilitates phagocytosis of cell debris and stimulates the release of IL-1, IL-6, IL-8, and TNF- α [48]. IL-10, an anti-inflammatory cytokine, seems to participate in muscle regeneration [19]. IL-8 has inflammatory properties including chemotaxis and the induction of neutrophils degranulation [50] (Fig. 1).

The effects of phytochemical treatments on blood inflammatory markers were reported in two of the discussed studies [24,29] (Table 1). Curcumin capsules prevented a transient although significant increase in IL-8 levels after exercise. CRP levels just tended to be lower than placebo at 24 h post-exercise [29]. The authors concluded that the anti-inflammatory mechanism of the treatment might be partly associated with suppression of the NF- κ B. Supplement containing quercetin and hesperitin attenuated post-exercise changes in IL-6 and CRP levels [24]. It was assumed that these benefits resulted from the anti-inflammatory effects of the supplement, although they seem to have been insufficient to decrease muscle damage. In this study, however, in addition to flavonoids, supplementation further contained another compound with anti-inflammatory properties: the fatty acid docosahexaenoic acid [51]. Thus, the effects of supplementation reported by the authors cannot be attributed, at least exclusively, to its phytochemical compounds. Noteworthy is also that neither of the above studies [24,29] included muscle strength as a marker of muscle damage [39], which may have limited the observation of potential effects of treatment on the associations between inflammatory and muscle damage markers. None of the discussed studies assessed IL-10 response to EEIM. However, there is evidence of rising in plasma IL-10 levels after a 2.5-h run in subjects supplemented with blueberry [52].

ROS/RNS act as signals in cellular processes that integrate adaptive mechanisms to acute exercise and training [52]. There are evidences that high doses supplementation with of antioxidant compounds, including nutrients, can impair cellular adaptation to exercise [5, 53]. However, little is known about the effects of supplementation of phytochemicals with antioxidant and anti-inflammatory properties in immediate and long-term body adaptations to eccentric exercise. Funes et al. [30] showed that eccentric training increased basal activity of the antioxidant enzymes glutathione

peroxidase, glutathione reductase, and catalase in neutrophils and decreased circulating levels of IL-6 and IL-1 β , which was consistent with adaptive mechanisms of the antioxidant and immune systems. The authors highlighted that lemon verbena extract did not negatively influence the adaptive responses and promoted further decrease in IL-6 production in the cell. Therefore, regular dietary phytochemicals intake seems to be beneficial rather than harmful to adaptive responses to exercise.

Conclusion and future perspectives

Supplementation with dietary phytochemicals seems to have the potential to positively modulate EEIMD symptoms. However, it is unclear whether these benefits involve primarily antioxidant mechanisms. According to several evidences, it appears that the effects of this strategy result from complex interactions between a number of factors, including type and concentration of phytochemicals compounds, dose and timing of intervention, metabolism and biological activities of phytochemicals, presence of other bioactive compounds, and influence of the factors inherent in the food matrix. In addition, methodological issues such as dietary intake, training status, exercise protocol, and type of muscle damage marker used may also influence the results. Thus, the presence of the antioxidant phytochemicals in the supplement may be an essential part, but not sufficient for the strategy's effectiveness.

Given the promising evidence—although still limited—additional studies should be conducted to identify specific strategies with phytochemical-rich food/beverage to mitigate muscle symptoms associated with EEIMD, as well as elucidate potential mechanisms of action of these bioactive compounds. This knowledge may help professionals in dietary planning for sportspeople. Additionally, accurate critical analysis is recommended regarding methodological aspects that might interfere with the proper interpretation of supplementation effects, so that the understanding and practical application of the results can be solidly grounded.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- [1] Proske U, Morgan DL, Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol* 2001;1(537):333-45.
- [2] McLeay Y, Barnes MJ, Mundel T, Hurst SM, Hurst RD, Stannard SR. Effect of New Zealand blueberry consumption on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. *J Int Soc Sports Nutr* 2012;9(1):19.
- [3] Paulsen G, Cramer R, Benestad HB, Fjeld JG, Mørkrid L, Hallén J et al.. Time course of leukocyte accumulation in human muscle after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2010;42(1):75-85.
- [4] Howell JN, Chleboun G, Conatser R. Muscle stiffness, strength loss, swelling and soreness following exercise-induced injury in humans. *J Physiol* 1993;464:183-196.
- [5] Michailidis Y, Karagounis LG, Terzis G, Jamurtas AZ, Spengos K, Tsoukas D et al.. Thiol-based antioxidant supplementation alters human skeletal muscle signaling and attenuates its inflammatory response and recovery after intense eccentric exercise. *Am J Clin Nutr* 2013;98(1):233-45.
- [6] Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. *Sports Med* 2003;33(2):145-164.
- [7] Ebbeling CB, Clarkson PM. Muscle adaptation prior to recovery following eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1990;60(1):26-31.
- [8] Paulsen G, Mikkelsen UR, Raastad T, Peake JM. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exerc Immunol Rev* 2012;18:42-97.
- [9] MacIntyre DL, Reid WD, Lyster DM, Szasz IJ, McKenzie DC. Presence of WBC, decreased strength, and delayed soreness in muscle after eccentric exercise. *J Appl Physiol* 1996;80(3):1006-13.
- [10] Malm C, Sjödin TL, Sjöberg B, Lenkei R, Renström P, Lundberg IE et al.. Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human

skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *J Physiol* 2004;556(3):983-1000.

[11] Butterfield TA, Best TM, Merrick MA. The dual roles of neutrophils and macrophages in inflammation: a critical balance between tissue damage and repair. *J Athl Train* 2006;41(4):457-65.

[12] Peake J, Nosaka K, Suzuki K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc Immunol Rev* 2005;11:64-85.

[13] Connolly DA, McHugh MP, Padilla-Zakour OI, Carlson L, Sayers SP. Efficacy of a tart cherry juice blend in preventing the symptoms of muscle damage. *Br J Sports Med* 2006; 40(8):679-83.

[14] Goldfarb AH, Garten RS, Cho C, Chee PD, Chambers LA. Effects of a fruit/berry/vegetable supplement on muscle function and oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.* 2011;43(3):501-8.

[15] O'Connor PJ, Carvalho AL, Freese EC, Cureton KJ. Grape Consumption's Effects on Fitness, Muscle Injury, Mood, and Perceived Health. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2013;23(1):57-64.

[16] Warren GL, Ingalls CP, Lowe DA, Armstrong RB. Excitation-contraction uncoupling: major role in contraction-induced muscle injury. *Exerc Sport Sci Rev* 2001;29(2):82-7.

[17] Armstrong RB, Warren GL, Warren JA. Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury. *Sports Med* 1991;12(3):184-207.

[18] Faulkner JA, Brooks SV, Opitck JA. Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention. *Phys Ther* 1993;73(12):911-21.

[19] Tidball JG, Villalta SA. Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;298(5):1173-87.

[20] Kerksick CM, Roberts MD, Dalbo VJ, Kreider RB, Willoughby DS. Changes in skeletal muscle proteolytic gene expression after prophylactic supplementation of EGCG and NAC and eccentric damage. *Food Chem Toxicol* 2013;61:47-52.

- [21] Trombold JR, Barnes JN, Critchley L, Coyle EF. Ellagitannin consumption improves strength recovery 2-3 d after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2010;42(3):493-8.
- [22] O'Fallon KS, Kaushik D, Michniak-Kohn B, Dunne CP, Zambraski EJ, Clarkson PM. Effects of quercetin supplementation on markers of muscle damage and inflammation after eccentric exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2012;22(6):430-7.
- [23] Black CD, Herring MP, Hurley DJ, O'Connor PJ. Ginger (*Zingiber officinale*) reduces muscle pain caused by eccentric exercise. *J Pain* 2010;11(9):894-903.
- [24] Phillips T, Childs AC, Dreon DM, Phinney S, Leeuwenburgh C. A dietary supplement attenuates IL-6 and CRP after eccentric exercise in untrained males. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35(12):2032-7.
- [25] Trombold JR, Reinfeld AS, Casler JR, Coyle EF. The effect of pomegranate juice supplementation on strength and soreness after eccentric exercise. *J Strength Cond Res* 2011;25(7):1782-8.
- [26] Kerksick CM, Kreider RB, Willoughby DS. Intramuscular adaptations to eccentric exercise and antioxidant supplementation. *Amino Acids* 2010;39(1):219-32.
- [27] Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Sandoval E. BounceBack capsules for reduction of DOMS after eccentric exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover pilot study. *J Int Soc Sports Nutr* 2009;5;6:14.
- [28] Machin DR, Christmas KM, Chou TH, Hill SC, Van Pelt DW, Trombold JR et al.. Effects of differing dosages of pomegranate juice supplementation after eccentric exercise. *Physiol J* 2014;2014:271959.
- [29] Drobic F, Riera J, Appendino G, Togni S, Franceschi F, Valle X et al.. Reduction of delayed onset muscle soreness by a novel curcumin delivery system (Meriva®): a randomised, placebo-controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr* 2014;11:31.

- [30] Funes L, Carrera-Quintanar L, Cerdán-Calero M, Ferrer MD, Drobnic F, Pons A et al.. Effect of lemon verbena supplementation on muscular damage markers, proinflammatory cytokines release and neutrophils' oxidative stress in chronic exercise. *Eur J Appl Physiol* 2011;111(4):695-705.
- [31] Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ et al.. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ* 2010;340:c869.
- [32] Sewright KA, Hubal MJ, Kearns A, Holbrook MT, Clarkson PM. Sex differences in response to maximal eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40(2):242-51.
- [33] Dannecker EA, Liu Y, Rector RS, Thomas TR, Fillingim RB, Robinson ME. Sex differences in exercise-induced muscle pain and muscle damage. *J Pain* 2012;13(12):1242-9.
- [34] Bambaiechi E, Reilly T, Cable NT, Giacomoni M. The isolated and combined effects of menstrual cycle phase and time-of-day on muscle strength of eumenorrheic females. *Chronobiol Int* 2004;21(4-5):645-60.
- [35] Hubal MJ, Chen TC, Thompson PD, Clarkson PM. Inflammatory gene changes associated with the repeated-bout effect. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;294(5):1628-37.
- [36] Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal* 2013;18(14):1818-92.
- [37] Saura-Calixto F, Serrano J, Goni I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem* 2007;101(2):492-501.
- [38] Mahoney DJ, Safdar A, Parise G, Melov S, Fu M, MacNeil L et al.. Gene expression profiling in human skeletal muscle during recovery from eccentric exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;294(6):1901-10.

- [39] Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med* 1999;27(1):43-59.
- [40] Jeffery E. Component interactions for efficacy of functional foods. *J Nutr* 2005;135(5):1223-5.
- [41] Li YP, Chen Y, Li AS, Reid MB. Hydrogen peroxide stimulates ubiquitin-conjugating activity and expression of genes for specific E2 and E3 proteins in skeletal muscle myotubes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2003;285(4):806-12.
- [42] Ide BN, Nunes LAS, Brenzikofer R, Macedo DV. Time course of muscle damage and inflammatory responses to resistance training with eccentric overload in trained individuals. *Mediators Inflamm* 2013;2013:204942.
- [43] Gunst JJ, Langlois MR, Delanghe JR, De Buyzere ML, Leroux-Roels GG. Serum creatine kinase activity is not a reliable marker for muscle damage in conditions associated with low extracellular glutathione concentration. *Clin Chem* 1998;44(5):939-43.
- [44] Zembron-Lacny A, Gajewski M, Naczka M, Siatkowski I. Effect of shiitake (*Lentinus edodes*) extract on antioxidant and inflammatory response to prolonged eccentric exercise. *J Physiol Pharmacol* 2013;64(2):249-54.
- [45] Argüelles, S, García S, Maldonado M, Machado A, Ayala A. Do the serum oxidative stress biomarkers provide a reasonable index of the general oxidative stress status? *Biochem Biophys Acta* 2004;1674(3):251-59.
- [46] Hirose L, Nosaka K, Newton M, Laveder A, Kano M, Peake J et al.. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc Immunol Rev* 2004;10:75-90.
- [47] Petersen AM, Pedersen BK. The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise. *J Physiol Pharmacol* 2006;57(Suppl 10):43-51.

[48] Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *J Biol Chem* 2004;279(47):48487-90.

[49] Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285(2):433-7.

[50] Curfs JH, Meis JF, Hoogkamp-Kortanje JA. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *ClinMicrobiol Rev* 1997;10(4):742-80.

[51] Tartibian B, Maleki BH, Abbasi A. The effects of ingestion of omega-3 fatty acids on perceived pain and external symptoms of delayed onset muscle soreness in untrained men. *Clin J Sport Med* 2009;19(2):115-9.

[52] McAnulty LS, Nieman DC, Dumke CL, Shooter LA, Henson DA, Utter AC et al. Effect of blueberry ingestion on natural killer cell counts, oxidative stress, and inflammation prior to and after 2.5 h of running. *Appl Physiol Nutr Metab* 2011;36(6):976-84.

[53] Powers SK, Talbert EE, Adhihetty PJ. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *J Physiol*. 2011;589(9):2129-38.

APÊNDICE B – Artigo aceito

PANZA, V. P, et al.. Effects of mate tea consumption on muscle strength and oxidative stress markers after eccentric exercise. **Br J Nutr**, v. 26, p. 1-9, 2016. No prelo. doi:10.1017/S000711451600043X

Abstract

Dietary phytochemical supplementation may improve muscle recovery from exercise. Herein we investigated the effect of mate tea (MT) consumption, a phenol-rich beverage, on muscle strength and oxidative stress biomarkers after eccentric exercise. In a randomized crossover design, 12 men were assigned to drink either MT or water (control; CON) for 11 days. On the 8th day, subjects performed three sets of 20 maximal eccentric elbow flexion exercises. Maximal isometric elbow flexion force was measured before and at 0, 24, 48, and 72 h after exercise. Blood samples were obtained before and at 24, 48, and 72 h after exercise and analyzed for total phenolics, reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), GSH/GSSG ratio, and lipid hydroperoxides (LOOH). After eccentric exercise, muscle strength was significantly reduced over time, regardless of treatments. However, MT improved the rate of strength recovery by 8.6% during the first day postexercise ($P<0.05$). Plasma concentration of total phenolic compounds was higher in MT than in CON at all time points ($P<0.05$) but decreased significantly at 72 h postexercise in both trials ($P<0.05$). Blood levels of GSH were significantly decreased at 48 and 72 h postexercise in CON ($P<0.05$) but did not change over time in MT. No significant changes were observed for GSSG, GSH/GSSG ratio, and LOOH levels. MT intake did not influence muscle strength at all time

points assessed but hastened the strength recovery over 24 h postexercise. MT also favored the concentration of blood antioxidant compounds.

Keywords: *Ilex paraguariensis*: Mate tea: Phenolic compounds: Eccentric exercise: Muscle damage: Isometric strength: Oxidative stress.

Introduction

During an eccentric muscle action—as it occurs in lowering a dumbbell—, the muscle is being forcibly lengthened while generating force⁽¹⁾. It is well established that exercises that involve unaccustomed and/or repeated eccentric actions may result in muscle damage and immediate decline in muscle strength⁽¹⁻⁴⁾. The complete restoration of muscle function can take from a few to several days after exercise, depending on the extent of the damage⁽²⁻⁴⁾. It has been assumed that the delayed recovery of muscle strength may be in part associated with further damages elicited by reactive molecules released within the injured muscle⁽⁵⁻⁸⁾.

There is growing evidence that supplementation with foods rich in phytochemicals that have antioxidant and/or anti-inflammatory properties may improve the recovery from eccentric exercise-induced muscle damage (EEIMD)⁽⁹⁻¹²⁾. Having several choices of dietary strategies for strength recovery can be quite advantageous for sportspeople. In this sense, the consumption of mate tea (MT), a beverage made from an infusion of roasted leaves of yerba mate (*Ilex paraguariensis*), might be an interesting option. Yerba mate is a plant originally from South America that represents a good source of phytochemicals with antioxidant and anti-inflammatory properties such as phenolic compounds and saponins⁽¹³⁾. The consumption of MT or green yerba mate infusion has increased antioxidant defense in plasma and in immune cells in humans⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Acute or regular consumption of yerba mate-based beverages, such as MT and green yerba mate infusion, has been shown improvements related to healthy and clinical disorders, such as dyslipidemia, diabetes and obesity⁽¹³⁻¹⁶⁾. On the other hand, information about benefits of yerba mate regarding exercise is scarce. It was recently demonstrated that acute supplementation with ground yerba mate leaves improved fat oxidation during submaximal aerobic exercises in healthy subjects⁽¹⁷⁾. In an animal study, treatment with yerba mate extract over a 4-week swimming training attenuated lipid peroxidation, as well as increased superoxide dismutase enzyme activity

in muscle and liver⁽¹⁸⁾. However, the effects of MT intake on the recovery of muscle function after damaging exercise are still unknown.

Therefore, the primary purpose of this study was to investigate if MT supplementation influences the recovery of muscle strength after a bout of eccentric exercise in physically active subjects. We also assessed the effects of MT on blood oxidative stress biomarkers following exercise.

Materials and methods

Subjects

Twelve healthy and physically active male students (25.1±3.6 yr, 75.1±9.8 kg, 175.8±5.8 cm) were recruited from the Department of Physical Education of a local University. The volunteers were selected according to the following criteria: non-athletes; not having participated in resistance training program in the previous 3 months; not been involved in any structured endurance training program; non-smokers; free of any disease, infection, or inflammatory processes; not having history of upper limb injury; and not using any medication, herbals, ergogenic aids, or antioxidant supplements. All experimental procedures were explained to the subjects before signing a written agreement. The study was approved by the Ethics Committee on Human Research of the Federal University of Santa Catarina. The trial was registered as RBR-5pj5bb.

Experimental design

This study was a randomized, controlled, crossover trial. The experimental design is displayed in Figure 1. The trial was constituted of two 11-d treatment periods (P1 and P2) with a 17-d washout period between each treatment (Fig. 1). Participants were randomly assigned to initiate P1 drinking 200 mL of either MT or water (control, CON). The beverages were drunk three times per day (morning, afternoon, and night). On the morning of the 8th day, subjects were instructed to drink one of the three daily doses of MT or CON 1 h before exercise tests. After this time, all subjects performed a damaging eccentric exercise protocol with one arm, which was chosen randomly. Maximal isometric force (i.e. isometric strength) of elbow flexor muscles was measured before (PRE) and at 0, 24, 48, and 72 h after exercise. Blood samples were obtained at PRE and at 24, 48, and 72 h after exercise, prior to the isometric strength test. On the second test period (P2), exercise tests were performed with the contralateral arm. All participants were

instructed to ingest a standardized breakfast composed of skimmed milk, sugar, white bread, honey, and bananas 2 h before the exercise tests. All subjects maintained their usual physical activities, except in the 24 h before the eccentric exercise bout, during which they were asked to refrain intense activities using upper limbs.

MT preparation and intake

Participants received a completely sealed 50 g package of lyophilized instant MT (Leao Alimentos e Bebidas[®], Curitiba-PR, Brazil). Instructions for preparing and drinking MT were given verbally and in writing. MT was prepared dissolving 1 g (one teaspoon) of instant MT in 200 mL of cold water (5 mg/mL), according to the manufacturer's instructions. No sugar, sweetener, or fruits were allowed to be added to the beverage.

Determination of total phenolics of MT

The total phenol content of MT was measured according to the modified Folin-Ciocalteu method as described by Singleton *et al.*⁽¹⁹⁾. Briefly, 300 μ L of MT was added to 1 mL of 95% ethanol, 5 mL of distilled water, and 0.5 mL of 50% Folin-Ciocalteu reagent. After 5 min, 1 mL of 5% sodium bicarbonate was added. The mixture was left at room temperature in the absence of light for 1 h. The absorbance of the colored product was measured at 765 nm and 3-caffeoylquinic acid was used as a standard. The average inter-assay coefficient of variation (CV) for triplicate preparations was 7.3%.

The phenolic acids of MT were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC; Shimadzu LC-10; Kyoto, Japan) as described by Strassmann *et al.*⁽²⁰⁾. The instant MT was prepared and filtered through a 0.45 μ m micropore membrane and aliquots were injected into a C18 reverse-phase column (Shim-pack, 4.6 mm x 250 mm, 5 μ m) with a Shim-pack C18 guard column (4.0 mm x 10 mm, 5 μ m). An isocratic mobile phase consisting of n-butanol-acetic acid-water (97.0:0.28:2.72, v/v/v) was used at a flow rate of 0.8 mL/min. The assay was monitored at 325 nm. The concentration of phenolics was quantified by five-point calibration curves of standards. Gallic, caffeic, 3-caffeoylquinic, and 4,5-dicaffeoylquinic acids were used as standards. The final concentration of phenolic compounds was determined averaging the results of three consecutive injections.

Determination of total saponins content in MT

The content of total saponins in MT was measured by a spectrophotometric method after acid hydrolysis of the MT saponins and extraction of sapogenins, as described by Gnoatto *et al.*⁽²¹⁾, and reaction with vanillin and perchloric acid, according to Fan and He⁽²²⁾. Ursolic acid, the major triterpenic nucleus of saponins present in *I. paraguariensis* [21], was used as a standard, and the results were expressed as milligram equivalents of ursolic acid per milliliter. The inter-assay CV of the total saponins content of three MT preparations was 8.1%.

Eccentric exercise

The eccentric exercise protocol was performed on an isokinetic dynamometer (Biodex System-4Pro[®], Biodex Medical Inc., NY, USA). Subjects performed three sets of 20 repetitions of unilateral, maximal, isokinetic eccentric actions of the elbow flexor muscles at an angular velocity of 45°/s, with 2 min rest between sets. The range of motion was from 50° to 170° of full elbow flexion. Subjects were seated with their elbow on a Scott Bench (Troya, Curitiba-PR, Brazil) and the axis of rotation was aligned with the lateral epicondyle of the humerus. Each repetition lasted 3 s. During the exercise, participants were verbally encouraged to perform maximal effort. Total work was recorded for each set.

Isometric strength test

To evaluate the maximal force generation of the elbow flexors, participants performed three maximum voluntary isometric muscle actions at 90°, each lasting 3 s, with 2 min of rest between sets. Strength was reported as the highest peak torque recorded at each trial. Subjects were verbally encouraged throughout the test. Prior to the tests, subjects warmed up by actively flexing and extending the elbow joint (10 repetitions) at 120°/s. All volunteers participated in familiarization tests on the isokinetic dynamometer before the beginning of the study. Isometric strength was expressed as a percent of pre-exercise levels. The rate of isometric strength recovery was calculated by subtracting the value of the strength at 24, 48, or 72 h after exercise from the value of the strength immediately after eccentric exercise (0 h).

Blood sampling

Blood was collected between 7:00-8:00 AM, before any exercise test and after 15 min rest in a sitting position. The exercise test protocols

started at 8:00 AM. Samples were obtained from the contralateral arm that was being test. The median antecubital vein was punctured using a hypodermic needle (25 x 7 mm) and the blood was collected into Vacutainer® tubes containing either ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA), heparin or without any anticoagulants. Plasma and serum were obtained by centrifugation (1000 x g for 10 min, at 4 °C). For the analysis of glutathione status, EDTA-whole blood (1 mL) was transferred to an Eppendorf tube containing 100 µL of 310 mM N-ethylmaleimide (NEM310, Sigma-Aldrich® St Louis), vortex-mixed, and frozen at -80 °C for later analysis.

Dietary intake

Participants maintained their usual dietary pattern throughout the study, except for the restriction (more than three times a week) of beverages with known antioxidant properties, such as black tea, green tea, wine and fruit juices. Three-day food records (one day weekend and two non-consecutive days during the week) were collected during each of the two experimental periods of the study (i.e. P1 and P2). Nutrient intake were analyzed for energy, macronutrients, vitamins (A, C, and E), and minerals (zinc, copper, manganese, and selenium) intake (Avanutri 4.0; Rio de Janeiro, Brazil).

Total phenolics in plasma

Total phenolic compounds in plasma were measured by the Folin-Ciocalteu colorimetric method, according to the methodology described by Serafini *et al.*⁽²³⁾. Briefly, 500 µL of duplicate plasma samples were acidified and, after extraction of complexed phenols with alcoholic sodium hydroxide, proteins were precipitated using 0.75 M metaphosphoric acid and re-extracted with a mixture of acetone/water (1/1). Then, aliquots (50 µL) of the samples were added to 0.5 mL of Folin-Ciocalteu reagent (50%). After 5 min, 1 mL of 5% sodium bicarbonate was added. The mixture was left at room temperature in the dark for 1 h. The absorbance of the colored product was measured at 765 nm and chlorogenic acid was used as a standard. The average inter-assay CV for duplicate preparations was 6.8%.

Glutathione status

GSH was determined in the whole blood by HPLC, according to the procedures described by Giustarini *et al.*⁽²⁴⁾. Aliquots of the EDTA whole blood treated with NEM310 (SEE BLOOD SAMPLING) were

deproteinized by the addition of 15% trichloroacetic acid (TCA) and then centrifuged at 14,000 x g at room temperature for 2 min. The supernatant was analyzed by HPLC using a C18 column (Tosoh - TSK-gel ODS-80Ts. 4.6 mm x 150 mm x 5 µm). The mobile phase was composed of 0.25% acetic acid and acetonitrile (94:6, v/v) at a flow rate of 1.25 mL/min. Signals were recorded at 265 nm with 400 nm as reference. GSH content was quantified through calibration GSH curves standards of five points and linear regression analysis.

GSSG was determined in the whole blood by spectrophotometry, according to Giustarini *et al.*⁽²⁴⁾. Aliquots of the EDTA whole blood treated with NEM310 were deproteinized and centrifuged as described above. Then, the supernatant was extracted with three volumes of dichloromethane (DCM). The mixture was vortex for 5 min and centrifuged at 14,000 x g at room temperature for 30 s. The supernatant (20 µL), 925 µL of 200 mM phosphate-buffered saline (PBS), 5 µL of 20 mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB), 20 µL of 7,5% TCA with 75.0 mg/mL EDTA, and 20 µL of 4.8 mM NADPH were transferred to an assay tube and absorbance was recorded (Spectrophotometer UV-1800 – Shimadzu, Kyoto, Japan) at 412 nm for 1 min (blank). Afterwards, 20 µL of 20 IU/mL glutathione reductase (GR) were added to the mixture and the enzyme kinetic reaction was monitored at 412 nm for 1 min. Then, 10 µM GSSG was added to the tube and the absorbance was recorded at 412 nm for 1 additional minute. GSSG concentration was calculated by the formula $[GSSGb = S \times [GSSGc] / St \times 49.5 \times 2]$, where $S = \Delta \text{ sample} - \Delta \text{ blank}$; $St = (\Delta \text{ sample} + \Delta \text{ GSSG}) - \Delta \text{ sample}$; 49.5 = dilution factor of sample in the cuvette and; 2 = dilution factor due to sample acidification. The results of both GSH and GSSG were normalized per gram of hemoglobin, which was measured by colorimetric endpoint assay. Briefly, an aliquot of whole blood was mixed with Drabkin reagent and the absorbance was read at 540 nm after 5 min at room temperature.

Lipid hydroperoxides

Lipid hydroperoxides (LOOH) were determined in heparin-plasma using ferrous oxidation-xylenol orange (FOX2), as described by Nourooz-Zadeh *et al.*⁽²⁵⁾. The method is based on the fast oxidation of Fe^{+2} to Fe^{+3} in acid medium mediated by lipid peroxides. In the presence of xylenol orange, Fe^{+3} forms a complex (Fe^{+3} -xylenol orange), which is measured spectrophotometrically at 560 nm. FOX2 reagent, containing 250 mM H_2SO_4 , 4.4 mM butylated hydroxytoluene (BHT), 1 mM xylenol orange, and 2.5 mM iron ammonium sulfate in methanol,

was added to aliquots of plasma, in duplicate. Ten μL of 10 mM triphenylphosphine (TPP) in methanol were added to two additional microtubes with plasma to reduce LOOH prior to the addition of FOX2 reagent, thereby generating a blank sample. Subsequently, the mixtures were kept at room temperature for 30 min, the tubes were centrifuged ($1000 \times g$, 5 min), and the absorbance was measured (Shimadzu, Tokyo, Japan). A standard hydrogen peroxide curve was used to quantify LOOH and the results were expressed in $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ equivalent of hydrogen peroxide. The inter-assay CV calculated by the measurement of hydrogen peroxide on different days was 10.2%. The average CV percentage for duplicate variation was 6.7%.

Sample size and statistical analysis

To our knowledge, this was the first investigation of the effects of MT supplementation on the recovery of muscle strength after EEIMD. Thus, there is no information available about the sample size necessary to detect significant differences ($P < 0.05$; power of 80%) between the MT and CON trials for muscle strength (the primary outcome). Previous similar crossover studies have reported improvement in strength recovery in samples of 10 to 16 subjects^(8,9,12). Therefore, we decided to conduct this crossover study with a sample size of 12 subjects (assuming 20% loss). The Shapiro-Wilk test was applied to determine the normality of the data. When necessary, the logarithmic transformation of data was used. Data that passed the normality check were analyzed using a two-way repeated-measure ANOVA. The Tukey's post hoc test was used for time, treatment, and treatment \times time analysis data. The Student's *t*-test was conducted to assess interactions between period and treatment (order effect). For data that did not pass the normality test, the Friedman's test with Tukey's post hoc test were used for time analysis and Wilcoxon Signed Rank test was performed to compare treatments at specific time point. Cohen's *d* (*d*) statistics⁽²⁶⁾, using the means and standard deviations⁽²⁷⁾, was applied to assess treatment effect size for data that passed the normality test. Effect sizes were assumed as trivial (< 0.20), small (between 0.20 and 0.49), medium (between 0.50 and 0.79), or large (> 0.80)⁽²⁶⁾. For data that did not pass the normality test, effect sizes were examined using Cliff's delta (δ) statistics. The amount of effect sizes was interpreted as trivial (< 0.147), small (between 0.147 and 0.33), medium (between 0.33 and 0.474), or strong (more than 0.474)⁽²⁸⁾. Retrospective power ($1 - \beta$) calculation⁽²⁹⁾ of effect size for the primary outcome with $n=12$ was carried out using G*Power®

(<http://www.gpower.hhu.de/en.html>) and the result indicated a power of 0.974. All comparisons were analyzed using SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). Statistical significance was set at $P \leq 0.05$. Data are given as mean (SD) or median (interquartile range, IR: 25%-75%). Cohen's d effect size was calculated using an effect size calculator (<http://www.cem.org/effect-size-calculator>). Cliff's delta effect size was computed using the Cliff's Delta Calculator software⁽³⁰⁾.

Results

All twelve participants recruited completed both intervention arms and were included in the data analysis. The assessment of the participant's 3-d dietary records showed that there were no significant differences between the MT and CON trials for energy and the analyzed nutrients intake (Table 1).

Quantitative analysis of MT

Total phenols, phenolic compound, and saponin contents in MT are given in Table 2. Considering that the participants had a daily intake of 3 g lyophilized instant mate, the mean intake of MT phenolic compounds and saponins was 890 and 142 mg/day, respectively. Chlorogenic acids were the major phenolic compounds found in MT followed by gallic acid, and caffeic acid.

Muscle strength

There was no significant difference in eccentric work performed between treatments (MT, 2454 ± 149 J vs CON 2498 ± 495 J, $d = -0.12$). Immediately after eccentric exercise (0 h), isometric strength was significantly below preexercise levels ($P < 0.001$), with no difference between MT and CON ($62.3 \pm 10.4\%$ vs CON, $63.2 \pm 11.8\%$ of PRE; $d = -0.08$) (Fig. 2). Strength remained significantly reduced from 24 to 72 h after exercise, regardless of the treatment used. Nevertheless, there was a medium effect size ($d = 0.53$) for isometric strength at 24 h postexercise. In addition, from 0 to 24 h after exercise, the pattern of the recovery of strength was distinct between trials. At 24 h, strength was significantly greater than at 0 h only in the MT trial (Fig. 2; $P = 0.008$). There were no order effects for either isometric strength value (data not shown).

In order to stress the evidences above, that mate tea may improve the isometric strength at 24 h post eccentric exercise, we reanalysed data taking into account the rate of muscle strength recovery. Based on the results, the rate of strength recovery during the 0-24 h interval was higher in MT than in CON ($15.3 \pm 9.2\%$ and $6.7 \pm 6.1\%$, respectively,

$P=0.009$) (Fig. 3), with a large effect size ($d=1.11$). The recovery rates at the 0-48 h and 0-72 h intervals were not different between treatments ($P=0.277$ and $P=0.250$, respectively), with small effect sizes ($d=0.31$ and $d=0.41$, respectively).

Biochemical variables

A significant time ($P=0.011$) and treatment ($P=0.008$) effect occurred for the plasma concentration of total phenolic compounds (Fig. 4). In both treatments, total phenolics were unaffected from PRE to 48 h after exercise, and then decreased significantly from 48 to 72 h after exercise (MT, $P=0.040$ and CON, $P=0.016$). However, the levels of total phenolic were higher in MT than in CON at all time points (PRE: $d=1.12$, $P=0.005$; 24 h: $d=0.59$, $P=0.014$; 48 h: $d=0.55$, $P=0.044$; and 72 h: $d=0.80$, $P=0.021$).

The blood concentration of GSH did not change over time in the MT trial (Fig. 5). However, there was a significant treatment effect ($P=0.002$) for GSH. The levels of GSH were higher in MT than in CON at PRE ($d=1.02$, $P=0.032$) and at 48 h ($d=0.86$, $P=0.012$) and 72 h ($d=1.08$, $P=0.002$) after exercise. In the CON trial, GSH had a non-significant rise from PRE to 24 h after exercise and then decreased significantly at 48 h ($P=0.040$) and 72 h ($P=0.009$) after exercise.

There were no significant changes over time or differences between conditions in either GSSG levels or GSH/GSSG ratio in the blood (Table 3). However, there was a medium effect size for GSSG at 72 h postexercise ($\delta=-0.37$). Effect size for GSSG was small at PRE ($\delta=-0.25$) and at 24 h after exercise ($\delta=-0.23$) and negligible at 48 h ($\delta=0.13$) after exercise. Additionally, effect size was medium for GSH/GSSG ratio at PRE ($\delta=0.38$) and 72 h ($\delta=0.42$) but was small at 24 h ($\delta=0.28$) and trivial at 48 h ($\delta=0.13$) after exercise.

Plasma LOOH levels did not change over recovery time in either of the treatment trials (Fig. 6). LOOH levels were not significantly different between treatments at all time points postexercise. The effect sizes for LOOH were small at PRE ($d=-0.20$) and at 24 h ($d=0.21$), and 48 h ($d=-0.45$) after exercise and trivial ($d=0.14$) at 72 h after exercise.

Discussion

This study investigated the effect of MT intake, a beverage rich in antioxidant phytochemicals, on muscle strength recovery and oxidative stress markers after eccentric exercise in healthy subjects. Our primary finding was that the consumption of 600 mL of MT (three 200 ml

drinks/day) providing 890 mg of phenols compounds per day improved the rate of recovery of isometric strength by 8.6% during the first day after eccentric exercise. This positive effect of MT on muscle recovery was large and significant ($d=1.11$; $P=0.007$) and agree with the reports that dietary phytochemical supplementation ameliorated muscle function after EEIMD^(4,9-12). In addition, although the measures of recovery were not significantly different between treatments (Fig. 2), MT had a medium effect ($d=0.53$) on isometric strength at 24 h postexercise. This means that the influence of MT on muscle strength at 24 h postexercise was "likely to be perceived", according to Cohen's statistics⁽²⁶⁾. The intake of MT also favored the circulating levels of total phenols and GSH before and after eccentric exercise.

The mechanisms whereby MT influenced the recovery from EEIMD were not directly examined in the present study. However, antioxidant and/or anti-inflammatory properties of yerba mate might be involved. For example, MT intake has improved gene expression and activity of antioxidant enzymes in leukocytes^(14,15). MT has also reduced cytokine expression in macrophages⁽³¹⁾ as well as inhibited neutrophils and macrophages infiltration into injured tissue⁽³²⁾. After EEIDM, phagocytes progressively accumulate in the muscle and initiate inflammatory events that precede tissue repair, including releasing reactive species that can help degrade cellular debris^(2,33-36). It has been assumed that reactive species released by phagocytes could occasionally act on intact structures, leading to additional damage and delayed recovery of muscle strength^(3,5-8,33). Neutrophils are the first phagocytes to invade the muscle, typically peaking in concentration between 6 and 24 h after damage and then quickly decreasing in numbers^(8,34-36). Phagocytic macrophages concentrations are elevated at 24 h and peaks about 48 h postinjury^(6,35,36). In this study, the pattern of strength recovery during the first 24 h postexercise was improved in MT compared with CON (Figs. 2 and 3). Thus, one might speculate that the effect of MT on strength recovery was in part associated with the modulation of neutrophil activities in the muscle throughout the 24 h after EEIMD. The minor effectiveness of MT on recovery beyond 24 h postexercise would be in line with the decline in neutrophil numbers within the muscle after peaking in concentration⁽³⁵⁾. However, significant amount of neutrophils in damaged muscle has been found five days after eccentric exercise⁽³⁴⁾. Thus, another explanation might be that, following the first day postexercise, the improvements on recovery promoted by MT would have been overwhelmed by an increment in

reactive species generation from other sources (e.g. activated macrophages)^(35,36) besides neutrophils.

The attenuation in MT effects on strength recovery beyond 24 h postexercise (Fig. 2) disagrees with the reports that supplementation with polyphenols-rich dietary sources improved muscle strength from 24 to 96 h after eccentric exercise^(4,9-12). However, this limited influence of MT on recovery might be due to the extent of muscle damage⁽²⁾. After EEIMD, strength recovery can be halted for a few or several days depending on the injury severity^(2,33). In the present study, strength deficits were over 20% from 48 to 72 h postexercise, in both treatments (Fig. 2). These results agree with the reports that supplementation with vegetable and anthocyanins-rich fruit powder concentrates for 4 wk did not affect the losses of more than 30% in isometric strength over the 24-72 h after eccentric exercise⁽³⁷⁾. Conversely, the consumption of cherry juice—rich in anthocyanins—for 8 d⁽¹²⁾ or pomegranate juice—rich in ellagitannins—for 9 d⁽⁹⁾ improved isometric strength recovery through the 24-96 h period after eccentric exercise. In these studies^(9,12), strength deficit at 72 h postexercise was about 16% with placebo, thus suggesting a lesser extent of muscle damage⁽²⁾ compared with those seen in the present work as well as in Goldfarb et al.⁽³⁷⁾. It is noteworthy that the degree of EEIMD depends on several factors, including the exercise protocol employed⁽²⁾, which could in part explain the discrepancies between the studies, regarding the degree of damage and, thus, treatment effectiveness.

Significant changes in blood GSH, GSSG, and/or GSSG/GSH ratio over 4 d after eccentric exercise have been reported by several studies^(38,39), whereas others have found just a transitory⁽³⁷⁾ or no change in blood glutathione status⁽⁴⁰⁾. In the present study, glutathione status seems to have been influenced by both the treatment and the exercise (Fig. 5). MT prevented the decrease in blood GSH from 24 to 72 h postexercise. In addition, MT had a significant influence on GSH before and at 48 and 72 h after exercise, as indicated by the large effect sizes ($d=1.02$, $d=0.86$, and $d=1.08$, respectively). Conversely, neither GSSG nor GSH/GSSG ratio was affected in both trials (Table 3), which could be partially explained by the large variability (~50-80%) found in both blood markers at all time points. However, there was a medium effect size for GSSG levels at 72 h ($\delta=0.32$) that was expressed as a reduction of 21% in the median of GSSG with MT. Additionally, the medium effect sizes for GSH/GSSG ratio before ($\delta=0.38$) and at 72 h ($\delta=0.42$) postexercise corresponded to 50% and of 90% increases, respectively, in

the median of GSH/GSSG ratio in the MT trial. Overall, these results suggest that MT intake favored blood glutathione status before and during the recovery period after EEIMD.

Among the phenolic compounds present in yerba mate infusions, there are many phenolic acids—mostly chlorogenic acids—and some flavonoids, such as rutin, quercetin, and kaempferol^(41,42). These phytochemicals are highly effective at inhibiting lipoperoxidation chain⁽⁴³⁾. The large ($d=1.02$) and significant effect of MT on the rest levels of plasma total phenolic after an 11-d treatment period (Fig. 4) agrees with the benefits provided by yerba mate in previous short-term studies^(14,15). Additionally, total phenolic was significantly higher with MT at all time points after exercise, showing medium effects at 24 h ($d=0.59$) and 48 h ($d=0.55$) and a large effect ($d=0.80$) at 72 h postexercise. Interestingly, in both treatments, total phenolic decreased significantly from 48 to 72 h postexercise, suggesting that phenolics compounds were useful during the recovery from EEIMD. It is noteworthy that, in the CON trial, the decline in plasma total phenolic from 48 to 72 h (Fig. 4) paralleled the decrease in blood GSH over the same time period (Fig. 5). Altogether, these results may suggest that the decrease in blood GSH availability led to a greater reliance on dietary antioxidants, notably lipid radical scavengers⁽⁴³⁾. On the other hand, one could propose that MT phenolics had GSH-sparing actions, mainly after the second day postexercise.

Plasma LOOH levels did not change in either treatment at all time points (Fig. 6). In the study of Goldfarb *et al.*⁽³⁷⁾, LOOH levels were unaffected over the 72 h postexercise, but plasma malondialdehyde (MDA) increased from 24 to 72 h postexercise in the placebo trial. Conversely, Childs *et al.*⁽⁴⁴⁾ found significant rise in LOOH but not in MDA in plasma from 48 to 96 h after eccentric exercise. The discrepancies concerning blood oxidative stress markers after eccentric exercise have been imputed to a number of factors, such as exercise protocol, time point in blood sampling, and oxidative stress marker examined⁽³⁸⁾.

The effects of MT on the biomarkers assessed in this study may have been limited by the small sample size. The lack of a placebo treatment may also have influenced the results, but unfortunately no suitable inert material compatible with the color and flavor of the lyophilized MT was available. Nevertheless, in addition to have favored blood antioxidant status, the bioactive properties of yerba mate may also have played some relevant role in the muscle after EEIMD, as suggested

by the faster rate of strength recovery during the first day after eccentric exercise with mate intake (Fig. 1 and Fig. 2).

In conclusion, the consumption of MT increased blood antioxidant levels and improved the rate of strength recovery from 0 to 24 h postexercise. However, MT intake did not affect the strength recovery measures made from 24 to 72 h after eccentric exercise. Having a faster recovery rate of muscle function over the first day after eccentric exercise might be particularly important for subjects who need to perform subsequent exercises and/or occupational activities that will employ the previously damaged muscles. Thus, MT intake may be an interesting option for physically active subjects. Further studies should corroborate our findings in larger samples as well as investigate cellular mechanisms underlying the potential effects of MT on muscle recovery from EEIMD.

Acknowledgments

The authors thank Leao Junior Co for providing the lyophilized instant mate tea.

Conflict of interest

We declare that Leao Alimentos e Bebidas partially supported this study providing the lyophilized instant mate tea.

Authorship

Vilma Pereira Panza – conception and design of the study; collection, analysis and interpretation of data.

Fernando Diefenthaler – design of the exercise protocol, supervision of the exercise data collection, and critical revision of the manuscript.

Aline Tamborindegy – design of the exercise protocol and collection of exercise data.

Carolina de Quadros Camargo – biochemical analysis.

Henver Simionato Brunetta – biochemical analysis.

Bruno Monteiro de Moura – collection of exercise data.

Raphael Luiz Sakugawa – collection of exercise data.

Marina Vieira de Oliveira – biochemical analysis.

Emiliana de Oliveira Puel – biochemical analysis.

Everson Araújo Nunes – supervision of the biochemical analysis and critical revision of the manuscript.

Edson Luiz da Silva – supervision of the biochemical analysis, interpretation of data, critical revision of the manuscript, and approval of the final version of the manuscript.

References

1. Allen DG (2001) Eccentric muscle damage: mechanisms of early reduction of force. *Acta Physiol Scand* **171**, 311-319.
2. Paulsen G, Mikkelsen UR, Raastad T, *et al.* (2012) Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exerc Immunol Rev* **18**, 42-97.
3. Faulkner JA, Brooks SV, Opitck JA (1993) Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention. *Phys Ther* **73**, 911-921.
4. McLeay Y, Barnes MJ, Mundel T, *et al.* (2012) Effect of New Zealand blueberry consumption on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. *J Int Soc Sports Nutr* **9**, 19.
5. Zerba E, Komorowski TE, Faulkner JA (1990) Free radical injury to skeletal muscles of young, adult, and old mice. *Am J Physiol* **258**, 429-435.
6. Lapointe BM, Frenette J, Côté CH (2002) Lengthening contraction-induced inflammation is linked to secondary damage but devoid of neutrophil invasion. *J Appl Physiol* **92**, 1995-2004.
7. Toumi H, F'guyer S, Best TM (2006) The role of neutrophils in injury and repair following muscle stretch. *J Anat* **208**, 459-470.
8. Pizza FX, Peterson JM, Baas JH, Koh TJ (2005) Neutrophils contribute to muscle injury and impair its resolution after lengthening contractions in mice. *J Physiol* **562**, 899-913.
9. Trombold JR, Barnes JN, Critchley L, *et al.* (2010) Ellagitannin consumption improves strength recovery 2–3 d after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc* **42**:493-498.
10. Machin DR, Christmas KM, Chou TH, *et al.* (2014) Effects of differing dosages of pomegranate juice supplementation after eccentric exercise. *Physiol J* **2014**:7.
11. Trombold JR, Reinfeld AS, Casler JR, *et al.* (2011) The effect of pomegranate juice supplementation on strength and soreness after eccentric exercise. *J Strength Cond Res* **25**, 1782-1788.
12. Connolly DA, McHugh MP, Padilla-Zakour OI, *et al.* (2006) Efficacy of a tart cherry juice blend in preventing the symptoms of muscle damage. *Br J Sports Med* **40**, 679-683.

13. Bracesco N, Sanchez AG, Contreras V, *et al.*. (2011) Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *J Ethnopharmacol* **136**, 378-384.
14. Matsumoto RL, Bastos DH, Mendonça S, *et al.*. (2009) Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. *J Agric Food Chem* **57**, 1775-1780.
15. Fernandes ES, Machado MO, Becker AM, *et al.*. (2012) Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) enhances the gene modulation and activity of paraoxonase-2: in vitro and in vivo studies. *Nutrition* **28**, 1157-1164.
16. Klein GA, Stefanuto A, Boaventura BC, *et al.*. (2011) Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves glycemic and lipid profiles of type 2 diabetes and pre-diabetes individuals: a pilot study. *J Am Coll Nutr* **30**, 320-332.
17. Alkhatib A (2014) Yerba Maté (*Illex paraguariensis*) ingestion augments fat oxidation and energy expenditure during exercise at various submaximal intensities. *Nutr Metab* **11**:42.
18. Morgan-Martins MA, Silva VS, Licks S, *et al.*. (2013) *Ilex paraguariensis* St. Hill (yerba mate) improves the metabolic profile of and protects against oxidative stress in exercised and non-exercised rats. *Int J Pharm Bio Sci* **4**, 1303-1311.
19. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* **299**, 152-178.
20. Strassmann BB, Vieira AR, Pedrotti EL, *et al.*. (2008) Quantitation of methylxanthinic alkaloids and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis*) and their effects on blood vessel formation in chick embryos. *J Agric Food Chem* **56**, 8348-8353.
21. Gnoatto SCB, Schenkel, EP, Bassani VL (2005) HPLC method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. *J Braz Chem Soc* **16**, 723-726.
22. Fan JP, He CH (2006) Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of *Diospyros kaki* by high performance liquid chromatography method. *J Pharm Biomed Anal* **41**, 950-956.
23. Serafini M, Maiani G, Ferro-Luzzi A (1998) Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J Nutr* **128**, 1003-1007.
24. Giustarini D, Dalle-Donne I, Milzani A, *et al.*. (2013) Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. *Nat Protoc* **8**, 1660-1669.

25. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, Wolff SP (1994) Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. *Anal Biochem* **220**, 403-409.
26. Cohen J (1993) A power primer. *Psychol Bull* **112**, 155-159.
27. Dunlap WP, Cortina JM, Vaslow JB, *et al.*. (1996) Meta-analysis of experiments with matched groups or repeated measures designs. *Psychol Methods* **1**, 170-177.
28. Romano J, Kromrey JD, Coraggio J, *et al.*. (2006) Exploring methods for evaluating group differences on the NSSE and other surveys: are the t-test and Cohen's d indices the most appropriate choices? <http://www.coedu.usf.edu/main/departments/me/documents/methodsforevaluatinggroup.pdf> (accessed December 2014).
29. Faul F, Erdfelder E, Lang A-G, Buchner A (2007) G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods* **39**, 175-191.
30. MacBeth G, Razumiejczyk E, Ldesma RD (2011) Cliff 's Delta Calculator: A non-parametric effect size program for two groups of observations. *Univ Psychol* **10**, 545-555.
31. Borges MC, Vinolo MA, Nakajima K, *et al.*. (2013) The effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on metabolic and inflammatory parameters in high-fat diet-fed Wistar rats. *Int J Food Sci Nutr* **64**, 561-569.
32. Lanzetti M, Bezerra FS, Romana-Souza B, *et al.*. (2008) Mate tea reduced acute lung inflammation in mice exposed to cigarette smoke. *Nutrition* **24**, 375-381.
33. MacIntyre DL, Reid WD, Lyster DM, *et al.*. (1996) Presence of WBC, decreased strength, and delayed soreness in muscle after eccentric exercise. *J Appl Physiol* **80**, 1006-1013.
34. Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, *et al.*. (1993) Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle. *Am J Physiol* **265**, 166-172.
35. Tidball JG, Villalta SA (2010) Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **298**, 1173-1187.
36. Brickson S, Hollander J, Corr DT, *et al.*. (2001) Oxidant production and immune response after stretch injury in skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 2010-2015.
37. Goldfarb AH, Garten RS, Cho C, *et al.*. (2011) Effects of a fruit/berry/vegetable supplement on muscle function and oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* **43**, 501-508.

38. Paschalis V, Nikolaidis MG, Fatouros IG, *et al.* (2007) Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise. *In Vivo* **21**, 877-883.
39. Nikolaidis MG, Paschalis V, Giakas G, *et al.* (2007) Decreased blood oxidative stress after repeated muscle-damaging exercise. *Med Sci Sports Exerc* **39**, 1080-1089.
40. Lee J, Goldfarb AH, Rescino MH, *et al.* (2002) Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 443-448.
41. Bastos DH, Saldanha LA, Catharino RR, *et al.* (2007) Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Molecules* **12**, 423-432.
42. Filip R, López P, Giberti G, *et al.* (2001) Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia* **72**, 774-778.
43. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* **20**, 933-956.
44. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, *et al.* (2001) Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic Biol Med* **31**, 745-753.

Table 1. Dietary intake* in the mate tea (MT) and control trials (Mean values and standard deviations)

Variables	MT	SD	Control	SD
Energy (kJ)	9887.6	2340.1	9520.7	2737.2
Energy (kcal)	2363.2	559.3	2275.5	654.2
Carbohydrate (g)	306.7	101.2	302.6	112.5
Protein (g)	123.2	24.5	121.1	30.1
Lipid (g)	76.5	12.2	72.4	10.8
Vitamin E (mg)	15.7	7.3	14.8	7.8
Vitamin C (mg)	106.2	74.0	103.3	75.5
Vitamin A (µg)†	425.8	235.4	419.1	225.0
Zn (mg)	15.3	3.5	14.3	3.0
Cu (µg)	1065.5	282.9	1048.5	281.0
Mn (mg)	2.5	0.6	2.4	0.4
Se (µg)	122.3	33.4	120.8	41.4

There was no statistical difference ($P > 0.05$) for any of the variables.

* Averages from 3-d food records.

† As retinol activity equivalents.

Table 2. Total phenol, phenolic compounds and saponin contents present in mate tea (MT)
(Mean values and standard deviations)

MT compounds	µg/ml*	SD
Total phenols	1482.3	41.5
5-Caffeoylquinic acid	112.7	7.6
3,5-Dicaffeoylquinic acid	106.3	5.8
4-Caffeoylquinic acid	100.5	5.5
3,4-Caffeoylquinic acid	67.7	4.2
3-Caffeoylquinic acid	63.8	5.1
4,5-Caffeoylquinic acid	4.5	3.7
Gallic acid	16.2	1.4
Caffeic acid	2.3	0.01
Total saponins	236.3	9.6

* Mean of triplicate measurements.

ns: in blood at pre-exercise (PRE) and after exercise*

	24h	OR (25-75%)	48h	IOR (25-75%)	72h	IOR (25-75%)
0.02	0.02	0.0-0.02	0.02	0.01-0.03	0.02	0.01-0.02
0.02	0.02	0.02-0.03	0.02	0.01-0.02	0.02	0.01-0.03
		0.24)		0.677		0.110
0.03	0.03	2.75-7.72.7	2.92.0	1.97.5-4.27.6	4.00.0	2.91.3-7.18.9
0.06	0.03	2.68-4.23.5	3.04.1	2.25.3-6.03.9	3.7.2.6	2.29.3-9.82.7
		0.424		0.861		0.077

Legends:

Fig. 1. Experimental design.

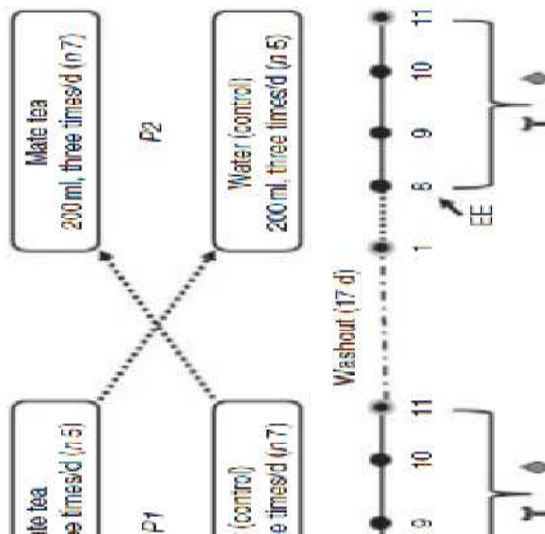
Fig. 2. Isometric elbow flexion strength (expressed as a percentage of preexercise levels) in the MT (●) and CON (○) trials. Treatments were consumed at a dosage of 200 mL, three times a day for 11 days. Values are mean (SD). Two-way repeated measures Anova and Tukey's post hoc test. Significant time effect: *** $P < 0.001$. Significantly different from 0 h postexercise: ** $P < 0.01$.

Fig. 3. Rate of strength recovery of isometric elbow flexion in the MT (black) and CON (gray) trials. Treatments were consumed at a dosage of 200 mL, three times a day for 11 days. Values are mean (SD) in the 0-24 h, 0-48 h, and 0-72 h periods. Two-way repeated measures Anova and Tukey's post hoc test. Mean value was significantly different from that the control trial: ** $P < 0.01$.

Fig. 4. Plasma concentration of total phenolics in the MT (●) and CON (○) trials. Treatments were consumed at a dosage of 200 mL, three times a day for 11 days. Values are mean (SD). Two-way repeated measures Anova and Tukey's post hoc test. Significant time ($P < 0.05$) and treatment ($P < 0.01$) effects. Mean value was significant different from that the control trial: * $P < 0.05$. ** $P < 0.01$

Fig. 5. Blood concentration of reduced glutathione (GSH) in the MT (●) and CON (○) trials. Treatments were consumed at a dosage of 200 mL, three times a day for 11 days. Values are mean (SD). Two-way repeated measures Anova and Tukey's post hoc test. Significant treatment ($P < 0.01$) effect. Mean value was significant different from that the control trial: * $P < 0.05$. ** $P < 0.01$

Fig. 6. Plasma concentration of lipid hydroperoxides in the MT (black) and CON (gray) trials. Treatments were consumed at a dosage of 200 mL, three times a day for 11 days. Values are mean (SD). Two-way repeated measures Anova and Tukey's post hoc test.



length test: before and at 0, 24, 48 and 72h after EE; ●, blood sample: before and at 24, 48

Figure 1

Figure 2

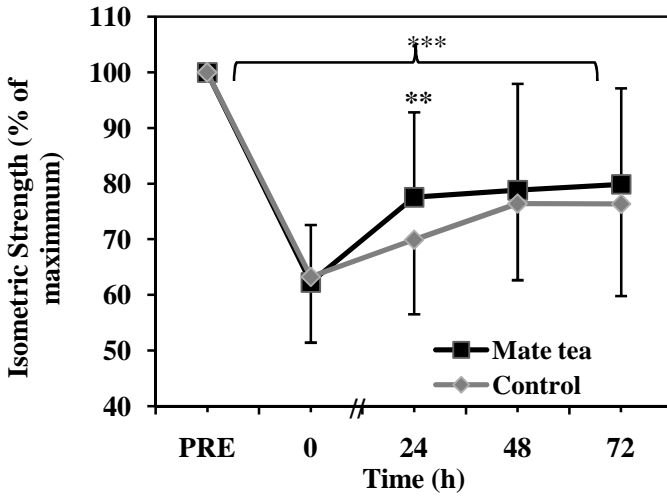


Figure 3

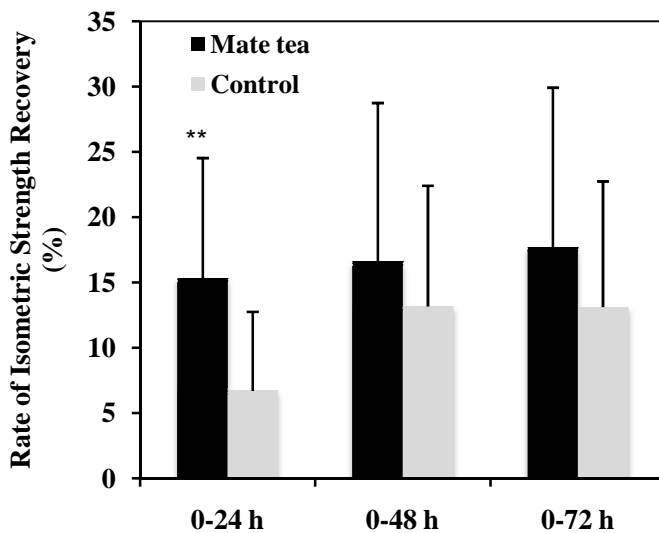


Figure 4

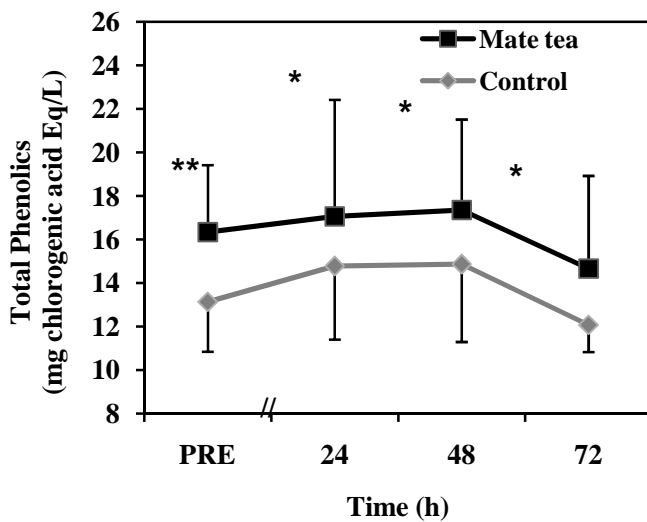


Figure 5

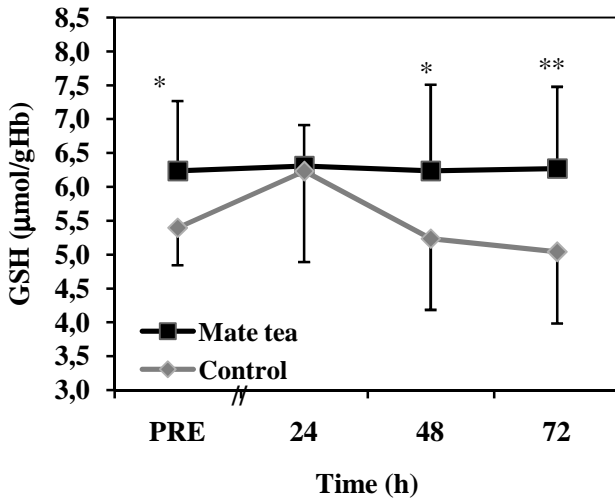
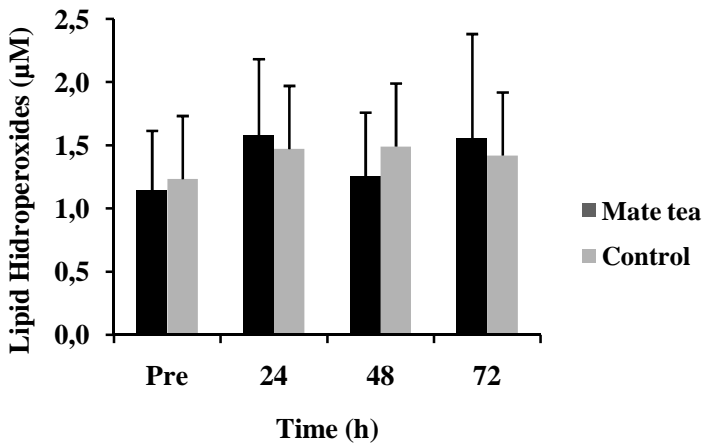


Figure 6



APÊNDICE C – Dados pessoais e antropométricos**DADOS PESSOAIS**

- 1- Nome:
- 2- Data de nascimento:
- 3- Telefone:
- 4- E-mail:

MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

	Medidas
Massa corporal (kg)	
Estatura (cm)	
Dobras cutâneas (mm):	
Tricipital	
Subescapular	
Suprailíaca	
Panturrilha medial	

APÊNDICE D - Orientações gerais quanto à alimentação durante o estudo e procedimentos de preparo e consumo do chá mate

ORIENTAÇÕES GERAIS

- Não ingerir bebidas à base de **erva mate (exceto a do estudo)** ou **alcoólicas**;
- Evitar o consumo diário de bebidas que contenham **cafeína (café, chás, refrigerantes etc)**, bem como de sucos de frutas, durante, pelo menos, sete dias antes do início e durante as duas fases do estudo (fase **CHÁ MATE** / fase **CONTROLE**).
- Nos dias em que serão feitos os testes com exercício, o seu desjejum deverá ser constituído dos seguintes alimentos: leite, açúcar, pão de trigo e mel. (**não usar** manteiga, margarina ou nata), e deverá ser realizado por volta de 2 horas antes do horário marcado para a coleta sanguínea.
- Nos dias dos testes com exercício, ingerir uma das doses de chá mate 1 hora antes do exercício;
- Evitar a realização de exercícios físicos intensos, pelo menos, 48 horas antes dos testes.

Fase CONTROLE:

- Consumir 200 mL de água, três vezes por dia (pela manhã, à tarde e à noite), seguindo os mesmos critérios de horários da fase CHÁ MATE.

Fase CHÁ MATE:

- Você receberá 1 envelope contendo 50 g de chá mate solúvel;
- O consumo diário de chá será o correspondente a 3 doses (pela manhã, à tarde e à noite), durante os 11 dias da fase CHÁ MATE;
- Para preparar cada dose, dissolver 1/3 da medida (1 g) em 200 mL de água filtrada (gelada ou quente); Nos quatro dias de testes com exercício, ingerir uma das doses 1 hora antes do teste;
- Não adicionar açúcar, adoçantes, frutas ou limão.

Seu período de consumir chá mate será de _____ à _____

APÊNDICE E - Questionário de Frequência Alimentar**QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR (continua)**

Nome: _____

ALIMENTO	FREQUÊNCIA DE CONSUMO				
	Nunca/raramente	1x/sem	2-3x/sem	4-5x/sem	6-7x/sem
Carnes brancas					
Carnes vermelhas					
Embutidos (ex. salsicha, mortadela) e presunto					
Cereais (ex. arroz, macarrão)					

Cereais integrais					
Leite e derivados integrais (ex. queijo, iogurte)					
Leite e derivados <i>light</i>					
Gorduras (ex. margarina, manteiga, azeite)					
Pães					
Biscoitos e bolos					
Leguminosas (ex. feijão, lentilha)					

QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR (conclusão)

Nome: _____

ALIMENTO	FREQUÊNCIA DE CONSUMO				
	Nunca/raramente	1x/sem	2-3x/sem	4-5x/sem	6-7x/sem
Raízes e tubérculos (ex. batata, mandioca)					
Folhosos (ex. espinafre, alface, couve, rúcula)					
Sopas e legumes (ex. cenoura, beterraba, abóbora)					

Frutas e suco natural					
Salgados (pizza, hambúrguer, pastel)					
Doces e guloseimas					
Bebidas alcoólicas					
Bebidas não-alcoólicas (refrigerante)					

APÊNDICE F - Registro Alimentar de 3 dias

Instruções gerais:

- Nos formulários em anexo, você deve registrar todo alimento consumido em 3 dias, em cada fase do estudo (chá mate e controle). Escolha 2 dias de semana e um dia de final de semana;

- A fim de evitar esquecimentos, faça o registro logo após a refeição;

- Anote o nome do alimento, bebida ou preparação, procurando especificá-lo o máximo possível (observe os exemplos abaixo). Informe sobre: tipo de alimento, teor de gordura (desnatado/semi-desnatado/integral), maneira de preparo (assado/grelhado/frito/vapor), como foi adoçado, tipo de gordura adicionada (se possível, informar a quantidade), ingredientes ou receita das preparações e marca do produto, se possível. Escreva a data, o dia da semana e a hora de cada refeição;

Exemplo de registro:

Refeições/ Horário	Alimento ou bebida	Quantidade (medida caseira)
-----------------------	--------------------	-----------------------------

Desjejum 7:30h	Leite integral Nescau Pão de trigo Margarina Mamão formosa	1 xícara média 1 colher de sopa cheia 1 unidade 2 colheres de chá médias 1 fatia média
Colação 10:00h	Bolacha maisena Suco de laranja	6 unidades 1 copo duplo (tipo "requeijão")
Almoço 12:30h	Bife bovino Arroz integral Feijão preto Brócolis cozido Tomate cru Cenoura crua Beterraba cozida Azeite de oliva	1 unidade média 8 colheres de sopa cheias 2 conchas médias 3 talos médios 2 fatias médias 3 colheres de sopa cheias 2 rodelas médias 2 colheres de chá

Medidas Caseiras de Colheres de Sopa:

Cheia



Média



Rasa



Nome: _____

Data _____/_____/_____

Dia da semana

Refeições/ Horário	Alimento ou bebida	Quantidade (medida caseira)

--	--	--

APÊNDICE G - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**

CEP: 88040-970 - FLORIANÓPOLIS - SANTA CATARINA

Participante N° |_|_|_|_|

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, da pesquisa intitulada **"Efeito do consumo de chá mate (*Ilex paraguariensis*) em marcadores do dano muscular, da inflamação e do estresse oxidativo após o exercício excêntrico"** de responsabilidade do pesquisador Prof. Dr. Edson Luiz da Silva. Neste estudo, pretendemos avaliar se o consumo de chá mate melhora o tempo de recuperação da força muscular, bem como diminui parâmetros

inflamatórios e do estresse oxidativo (danos por radicais livres) no sangue, após o exercício excêntrico. Os exercícios excêntricos (alongamento do músculo enquanto este produz força), quando não habituais ou intensos e/ou prolongados, podem causar dano muscular, o que pode levar, por alguns dias, à redução na força e inflamação muscular que, em parte, podem estar relacionados à danos excessivos por radicais livres. Pesquisas mostraram que esses sintomas foram atenuados com os consumos de sucos de cereja, de romã e de *blueberry*, que são ricos em antioxidantes. Porém, não há informações sobre efeitos do chá mate, uma bebida de sabor agradável, de baixo custo, e que apresenta excelente poder antioxidante. Estudos em nosso laboratório mostraram que o consumo de chá mate pode favorecer as concentrações de colesterol e glicose no sangue. Portanto, nossa intenção é conhecer seus efeitos em associação ao exercício.

Para a demonstração desses possíveis benefícios do chá mate no pós-exercício excêntrico, precisamos de sua colaboração, participando de um estudo, que será constituído de 2 fases, com 11 dias cada uma, e com 17 dias de intervalo entre elas. Durante uma das fases você consumirá 200 mL de chá mate e na outra 200 mL de água (controle), 3 vezes/dia, em qualquer horário. Em cada fase, no 8º dia de consumo, de chá mate ou água, você realizará, em equipamento isocinético, um protocolo de exercício excêntrico com o braço. Um teste de força máxima realizado no início do estudo e imediatamente antes, imediatamente depois e 24, 48 e 72 h após o exercício excêntrico.

Necessitaremos realizar uma coleta de 28 mL de sangue (7 tubos), em 4 momentos, em cada uma das fases: antes e 24, 48 e 72 h, após o exercício. Medidas de peso, estatura e dobras cutâneas serão efetuadas na semana anterior ao início do estudo. Você deverá manter os seus hábitos de atividade física e alimentação regulares durante o período do estudo; apenas solicitamos não ingerir bebidas à base de erva mate (exceto a do estudo) ou alcoólicas. Além disso, precisamos que evite exercícios vigorosos nas 48 h precedentes à execução do protocolo de exercício excêntrico. Pedimos que, durante todo o estudo, não seja feito o uso de medicamentos ou de qualquer tipo de suplemento (ex. creatina, cafeína, micronutrientes etc.).

Este protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC (nº 16832613.8.0000.0121) e trará o desconforto das coletas de sangue e da realização de exercícios intensos. Pessoas sensíveis à cafeína (um dos componentes do chá mate) poderão sentir irritação gástrica, tremores, excitabilidade ou insônia. Caso ocorra algum desses efeitos colaterais, favor interromper o

consumo de chá mate e entrar em contato com os pesquisadores. Esperamos, entretanto, que esse estudo traga benefícios, tais como o estímulo para que esportistas aproveitem as propriedades benéficas do chá mate, como um alimento funcional para a saúde e, possivelmente, para a *performance* física. Esta pesquisa não oferece riscos maiores do que aqueles citados acima, não tem fins lucrativos, é confidencial e o seu nome será usado apenas no primeiro momento de coleta das amostras de sangue. Em seguida, as amostras serão identificadas pelo número do seu cadastro. Os resultados do estudo poderão ser publicados em revistas científicas, apresentados em congressos ou eventos científicos, sem que o seu nome seja mencionado em parte alguma.

Sua participação é voluntária, podendo desistir desta pesquisa em qualquer de suas fases. Se você tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato pelos telefones 3721-9712 R. 221; 96452673; 30251047. Se você estiver de acordo em participar, garantimos que as informações obtidas e o material coletado serão confidenciais e só serão utilizados neste trabalho.

Eu, abaixo assinado, concordo em participar deste estudo.

Nome do(a) participante

Assinatura

Data:

Edson Luiz da Silva

Coordenador - Fone: 3721-9712

Fones: 30251047

96452673; e-mail: giovil@terra.com.br

Vilma Simões Pereira Panza

Pesquisadora -

R. 221 e-mail: dasilva@hotmail.com



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**

FONE: (48) 3721-8053; 3721-9712- FAX: (48) 3721-9542

Participante N°

|_|_|_|

Consentimento Para Participar Deste Estudo

Eu, _____ declaro que li e compreendi as informações contidas nesse documento. Fui devidamente informado (a) pelos pesquisadores – Prof. Dr. Edson Luiz da Silva e Vilma Simões Pereira Panza - dos procedimentos que serão utilizados e da conduta deste estudo intitulado "**Efeito do consumo de chá mate (*Ilex paraguariensis*) em marcadores do dano muscular, da inflamação e do estresse oxidativo após o exercício excêntrico**", e concordo em participar da pesquisa como voluntário. Foi-me garantido

que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade. Declaro ainda que recebi uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Florianópolis, ____ de _____ de _____.

Assinatura do(a) Participante Voluntário
R.G. _____

Prof. Dr. Edson Luiz da Silva
Professor Coordenador

Vilma Simões Pereira Panza
Doutoranda

APÊNDICE H - Valores descritivos das comparações intra e intergrupos dos resultados apresentados

H1 – Nível de significância e tamanho do efeito das comparações dos picos de torque dos músculos flexores do cotovelo entre os períodos BASAL e o pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

Pico de torque		Chá mate	Controle
Isométrico	Basal	71,6 ± 9,71	71,6 ± 9,71
	PRÉ	73,1 ± 15,0	70,2 ± 10,3
	Valor-p	0,587	0,370
	TE	-0,11 (-0,55-0,76)	0,15 (-0,80-0,51)
Concêntrico	Basal	57,5 ± 12,9	57,5 ± 12,9
	PRÉ	56,8 ± 13,1	55,0 ± 16,4
	Valor-p	0,463	0,463
	TE	0,14 (-0,52-0,79)	0,14 (-0,52-0,79)
Excêntrico	Basal	64,6 ± 12,44	64,6 ± 12,44
	PRÉ	63,7 ± 11,4	62,4 ± 11,6
	Valor-p	0,740	0,459

	TE	0,07 (-0,58-0,72)	0,18 (-0,48-0,83)
--	----	-------------------	-------------------

Teste *t* de Student. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 20.

H2 – Pico de torque isométrico (N.m) de flexores do cotovelo, no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	0 h	24 h	48 h	72 h
Chá mate	73,07 ± 14,98	46,27 ± 13,47*	55,93 ± 16,33 ^{*,†}	56,12 ± 15,72 ^{*,†}	57,82 ± 15,77 ^{*,†}
Controle	70,21 ± 10,27	46,80 ± 10,56*	47,57 ± 8,07*	51,97 ± 8,88*	53,46 ± 11,25 ^{*,‡}
Valor-p	0,313	0,848	0,005	0,144	0,235
TE	0,22 (-0,44-0,87)	-0,04 (-0,70-0,61)	0,65 (-0,04-1,30)	0,33 (-0,34-0,98)	0,25 (-0,42-0,90)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Interação tempo x tratamento (P=0,019). *P<0,001 comparado ao PRÉ; †P<0,001; ‡P=0,020, comparados a 0 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 20.

H3 – Variação percentual em relação ao PRÉ (Δ%) no pico de torque isométrico de flexores do cotovelo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	0 h	24 h	48 h	72 h
Chá mate	-36,9 ± 10,1	-23,5 ± 14,2 ^{*,†}	-22,5 ± 16,7 ^{*,†}	-21,4 ± 17,1 ^{*,†}
Controle	-33,3 ± 11,6	-31,7 ± 11,0*	-25,2 ± 12,4 ^{*,‡}	-23,1 ± 15,8 ^{*,§}
Valor-p	0,310	0,025	0,451	0,643
TE	-0,33 (-0,98-0,33)	0,65 (-0,04-1,30)	0,18 (-0,48-0,83)	0,10 (-0,56-0,75)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Interação tempo x tratamento (P=0,017). *P<0,001, comparado ao PRÉ; †P<0,001, ‡P=0,047; §P=0,005, comparados a 0 h. ||P=0,028, comparado a 24 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 20.

H4 – Variação percentual (Δ%) no pico de torque isométrico dos músculos flexores de cotovelo, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p	TE (IC95%)
0–24 h	21,8 ± 15,9	3,5 ± 13,1	<0,001	1,26 (0,52-1,95)
24–48 h	1,7 ± 14,7 ^a	9,8 ± 10,7	0,046	-0,63 (-1,28-0,05)
48–72 h	2,70 ± 16,8 ^b	3,2 ± 15,8	0,905	-0,03 (-0,68-0,62)

Two-way RM-ANOVA e teste de Tukey. ^aP<0,001; ^bP = 0,002, comparado a 0-24 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC, intervalo de confiança 95%). N = 20.

H5 – Pico de torque concêntrico (N.m) de flexores do cotovelo no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	0 h	24 h	48 h	72 h
Chá mate	56,77±13,05	39,32± 12,26*	42,18± 12,85*	42,20± 13,42*	44,60± 15,62*
Controle	54,96± 16,43	40,41± 10,46*	35,69± 8,37*	39,11± 8,56*	41,12± 10,66*†
Valor-p	0,590	0,416	0,005	0,347	0,198
TE	0,18 (-0,48-0,83)	-0,08 (-0,73- 0,57)	0,63 (-0,05- 1,29)	0,17 (-0,49- 0,82)	0,24 (-0,42- 0,89)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Interação tempo x tratamento P = 0,015. *P<0,001, comparado ao PRÉ. †P = 0,036, comparado a 24 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). Dados convertidos para log₁₀. N = 20.

H6 – Variação percentual (Δ%) em relação ao PRÉ no pico de torque concêntrico de flexores do cotovelo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	0 h	24 h	48 h	72 h
Chá mate	-29,7±12,8*	-23,9± 15,6*	-24,3±16,2*	-19,9±18,1*†
Controle	-24,7± 12,5*	-32,5±15,1*	-25,7± 16,5*	-22,7± 19,0*‡
Valor-p	0,205	0,032	0,687	0,485
TE	-0,40 (-1,05-0,27)	0,56 (-0,11-1,22)	0,10 (-0,56-0,75)	0,15 (-0,51-0,80)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Interação tempo x tratamento P = 0,018. *P<0,001, comparado ao PRÉ; †P=0,030 comparado a 0 h. ‡P=0,024 comparado a 24 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 20.

H7 – Variação percentual (Δ%) no pico de torque concêntrico dos músculos flexores de cotovelo, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p	TE (IC95%)
0–24 h	9,8 ± 21,8	-9,7 ± 16,9	<0,001	1,00 (0,29-1,67)
24–48 h	0,0 ± 14,5	10,7 ± 12,5 ^a	0,0,51	-0,79 (-1,45- -0,35)
48–72 h	8,0 ± 23,8	5,0 ± 16,1	0,569	0,15 (-0,51-0,80)

Two-way RM-ANOVA e teste de Tukey. ^aP = 0,009, comparado a 0-24 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC, intervalo de confiança 95%). N = 20.

H8 – Pico de torque excêntrico (N.m) de flexores do cotovelo, no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	0 h	24 h	48 h	72 h
Chá mate	63,73 ± 11,42	43,13 ± 14,21*	45,66 ± 14,56*	45,99 ± 14,25*	50,74 ± 15,85*†
Controle	62,41 ± 11,56	41,81 ± 10,24*	42,18 ± 12,10*	45,84 ± 12,17*	45,44 ± 11,38*
Valor-p	0,459	0,787	0,238	0,870	0,080
TE	0,11 (-0,54-0,77)	0,11 (-0,55-0,76)	0,26 (-0,41-0,91)	0,01 (-0,64-0,66)	0,38 (-0,28-1,03)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tempo (P<0,001). *P<0,001, comparado ao PRÉ. †P = 0,005, comparado a 0 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 20.

H9 – Variação percentual (Δ%) em relação ao PRÉ no pico de torque excêntrico de flexores do cotovelo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	0 h	24 h	48 h	72 h
Chá mate	-32,8 ± 15,0*	-28,5 ± 15,7*	-27,8 ± 16,9*	-20,3 ± 18,7*†
Controle	-32,7 ± 12,1*	-32,2 ± 15,0*	-26,4 ± 14,3*	-26,6 ± 16,4*
Valor-p	0,973	0,384	0,741	0,150
TE	-0,01 (-0,66-0,64)	0,24 (-0,42-0,89)	-0,09 (-0,74-0,57)	0,35 (-0,32-1,00)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tempo (P<0,001). *P<0,001, comparado ao PRÉ; †P=0,001, comparado a 0 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 20.

H10 – Variação percentual (Δ%) no pico de torque excêntrico dos músculos flexores de cotovelo, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p	TE (IC95%)
0-24 h	8,5 ± 22,6	0,7 ± 13,8	0,224	0,42 (-0,25-1,07)
24-48 h	2,4 ± 21,8	10,0 ± 16,0	0,296	-0,40 (-1,05-0,27)
48-72 h	12,9 ± 22,6	0,3 ± 13,4	0,057	0,68 (-0,01-1,33)

Two-way RM-ANOVA e teste de Tukey. ^aP = 0,009, comparado a 0-24 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC, intervalo de confiança 95%). N = 20.

H11 – Variação percentual ($\Delta\%$) na atividade sérica da creatina quinase em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle. N = 20.

	Chá mate	Controle	Valor-p	TE
24 h	76,4 (0,4-197,1)	35,0 (-0,7-132,8)	1,00	<0,147
48 h	166,8 (-14,7-411,7)	54,3 (-10,5-234,8)	0,966	<0,147
72 h	241,3 (19,0-2568,2)*	206,5 (-13,9-1107,3)*	0,966	<0,147

Teste de Wilcoxon. *P<0,05, comparado ao Pré. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: delta de Cliff. N = 20.

H12 - Variação percentual ($\Delta\%$) na atividade de creatina quinase no soro, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	-10,7 (-20,3–126,2)	108,3 (4,3–357,4)
Controle	-0,9 (-26,8–104,0)	37,6 (-14,1–177,5)
Valor-p	0,932	0,932
TE	0,03	0,17

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H13 - Variação percentual ($\Delta\%$) na atividade da aldolase no soro em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p	TE
24 h	6,5 (-9,9–48,4)	12,4 (-2,9–21,9)*	0,495	<-0,147
48 h	25,6 (10,5–78,4)*	13,2 (-16,0–69,5)	0,325	0,28
72 h	13,8 (-20,1–13,7)	2,1 (-30,8–45,8)	0,212	0,19

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: delta de Cliff. *P<0,05, comparado ao Pré. N = 20.

H14 – Variação percentual ($\Delta\%$) na atividade de aldolase no soro, em intervalos de tempo após dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	31,9 (-8,3–77,5)	-9,9 (-35,4–33,0)
Controle	-15,6 (-34,7–1,5)	9,1 (-34,7–53,7)
Valor-p	0,038	0,551
TE	0,43	<0,147

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H15 – Concentração de compostos fenólicos totais no plasma (mg de equivalente de ácido clorogênico/mL) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h-pós	48 h-pós	72 h-pós
Chá mate	16,70 ± 2,94	18,82 ± 5,48	17,85 ± 3,78	15,40 ± 4,10* [†]
Controle	14,21 ± 3,60	15,42 ± 3,74	15,77 ± 3,44	13,01 ± 2,48 ^{‡,§}
Valor-p	<0,002	<0,001	0,075	0,007
TE	0,83 (0,13-1,49)	0,66 (-0,02- 1,32)	0,50 (-0,17- 1,15)	0,70 (0,01-1,35)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tempo (P<0,001). Efeito do tratamento (P=0,002). *P = 0,002, comparado a 24 h. [†]P=0,024, comparado a 48 h. [‡]P=0,022, comparado a 24 h. [§]P<0,001, comparado a 48 h. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). Dados convertidos para log10. N = 20.

H16 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de fenólicos totais no plasma em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	4,6 (-5,5–29,8)	7,5 (-3,4–19,8)	1,00	<-0,147
48 h	4,3 (-3,1–11,1)	10,5 (0,3–23,5)*	0,325	-0,25
72 h	-10,6 (-22,1–8,1)	-1,7 (-22,9–12,4)	0,966	<0,147

Teste de Friedman e teste de Tukey. * $P < 0,05$, comparado ao Pré. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. $N = 20$.

H17 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de compostos fenólicos totais no plasma, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	2,6 (-13,6–9,4)	-8,4 (-30,6–7,2)
Controle	3,1 (-2,4–17,4)	-7,4 (-33,8– -0,03)
Valor-p	0,325	0,468
TE	<0,147	<0,147

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. $N = 20$.

H18 – Concentração de glutatona reduzida no sangue ($\mu\text{mol/gHb}$) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	6,27 \pm 0,99	6,16 \pm 0,83	6,20 \pm 1,22	6,15 \pm 1,20
Controle	5,34 \pm 0,70	5,74 \pm 1,42	5,20 \pm 0,95	4,94 \pm 0,95*
Valor-p	0,001	0,241	0,003	<0,001
TE	1,08 (0,36-1,76)	0,36 (-0,31-1,01)	0,91 (0,21-1,58)	1,13 (0,40-1,80)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tratamento ($P < 0,001$). * $P = 0,022$ comparado a 24 h. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: d de Cohen (IC95%). $N = 20$.

H19 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de glutatona reduzida no sangue em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE (IC95%)
24 h	-0,2 \pm 15,6	8,4 \pm 27,5	0,221	-0,31 (-0,96-0,36)
48 h	-0,1 \pm 17,3	-1,2 \pm 21,2	0,863	0,06 (-0,60-0,71)
72 h	0,0 \pm 22,0	-6,4 \pm 19,3*	0,404	0,31 (-0,35-0,96)

GSH, glutatona reduzida. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. * $P = 0,016$, comparado ao Pré. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: d de Cohen (IC, intervalo de confiança 95%). $N = 20$.

H20 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração glutaciona reduzida no sangue, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	0,73 \pm 13,9	0,9 \pm 18,8
Controle	-6,7 \pm 16,7	-2,4 \pm 23,7
Valor-p	0,145	0,627
TE	0,48 (-0,19—1,13)	0,16 (-0,50—0,81)

Teste *t* de Student. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 20.

H21 – Concentração de glutaciona oxidada no sangue ($\mu\text{mol/gHb}$) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h-pós	48 h-pós	72 h-pós
Chá mate	0,015 \pm 0,007	0,018 \pm 0,010	0,019 \pm 0,015	0,017 \pm 0,010
Controle	0,018 \pm 0,007	0,021 \pm 0,010	0,019 \pm 0,009	0,022 \pm 0,011
Valor-p	0,407	0,169	0,530	0,174
TE	-0,35 (-1,00-0,32)	-0,48 (-1,13-0,19)	-0,17 (-0,82- 0,49)	-0,43 (-1,08-0,24)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). Dados convertidos para log10. N = 20.

H22 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de glutaciona oxidada no sangue em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	18,3 (-20,9–44,7)	19,5 (-17,4–59,4)	0,369	<-0,147
48 h	-5,9 (-35,4–65,8)	9,5 (-29,8–47,4)	0,609	<-0,147
72 h	0,0 (-35,4–35,5)	31,0 (-22,7–100,0)	0,932	-0,16

GSSG, glutationa reduzida. Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H23 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração glutationa oxidada no sangue, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	8,3 (-47,8–48,2)	-2,9 (-42,5–33,5)
Controle	-14,6 (-35,0–23,8)	35,9 (3,4–65,4)
Valor-p	0,393	0,284
TE	0,11	-0,37

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H24 – Razão GSH/GSSG no sangue no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	505,76 ± 245,63	524,20 ± 455,40	657,25 ± 831,02	609,55 ± 830,52
Controle	370,82 ± 196,49	323,11 ± 205,00	353,42 ± 195,57	329,46 ± 327,22
Valor-p	0,127	0,084	0,155	0,022
TE	0,61 (-0,07-1,26)	0,62 (-0,06-1,27)	0,41 (-0,26-1,06)	0,68 (-0,01-1,33)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tratamento (P=0,027). Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). GSH, reduzida; GSSG, glutationa oxidada. Dados convertidos para log₁₀. N = 20.

H25 – Variação percentual ($\Delta\%$) na razão GSH/GSSG no sangue em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	-18,2 (38,6–32,7)	-10,8 (-35,8–27,1)	0,799	<-0,147
48 h	10,8 (-44,8–42,4)	-11,1 (-23,8–35,3)	0,865	<0,147
72 h	-1,9 (-36,2–30,4)	-19,4 (-50,8–21,9)	0,671	-0,19

GSH, reduzida. GSSG, glutationa oxidada. Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H26 – Variação percentual ($\Delta\%$) na razão GSH/GSSG no sangue, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	-13,2 (-31,1–90,1)	2,2 (-30,6–73,2)
Controle	-0,6 (-31,3–54,9)	-26,6 (-49,1–3,0)
Valor-p	0,832	0,417
TE	<-0,147	0,32

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. GSH, reduzida; GSSG, glutationa oxidada. N = 20.

H27 – Concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma (μM) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h-pós	48 h-pós	72 h-pós
Chá mate	1,14 \pm 0,47	1,57 \pm 0,61	1,25 \pm 0,51	1,56 \pm 0,82
Controle	1,23 \pm 0,45	1,47 \pm 0,61	1,49 \pm 0,56	1,42 \pm 1,12
Valor-p	0,607	0,559	0,189	0,438
TE	-0,20 (-0,99-0,61)	0,17 (-0,63-0,98)	-0,45 (-1,24-0,38)	0,14 (-0,66-0,94)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 12.

H28 – Variação percentual ($\Delta\%$) concentração de hidroperóxidos lipídicos no plasma em relação ao pré-dabo muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	28,3 (5,7-52,6)	-4,6 (-5,8-15,5)	0,240	0,42
48 h	-1,4 (-17,0-26,4)	6,5 (-17,0-45,1)	0,278	<-0,147
72 h	20,8 (-7,9-34,0)	-13,1 (-39,7-9,6)	0,005	0,48

Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 12.

H29 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração hidroperóxidos lipídicos no plasma, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	-18,2 (-49,0-19,6)	1,4 (-14,3-7,3)
Controle	-4,8 (-14,3-14,1)	-10,6 (-45,2-7,3)
Valor-p	0,240	0,019
TE	-0,36	0,45

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 12.

H30 – Concentração de carbonilas protéicas no plasma (nmol/mg) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle (n=20).

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	2,69 \pm 0,86	2,86 \pm 0,98	3,08 \pm 1,01	3,18 \pm 1,02
Controle	2,36 \pm 0,98	2,78 \pm 0,80	2,77 \pm 1,06	3,14 \pm 1,14*
Valor-p	0,369	0,794	0,338	0,914
TE	0,33 (-0,35-1,00)	0,09 (-0,59- 0,76)	0,30 (-0,38- 0,97)	0,12 (-0,53-0,77)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tempo P = 0,041. *P = 0,037, comparado ao PRÉ. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%).

H31 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de carbonilas protéicas no plasma em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	9,3 (-13,0-29,4)	16,4 (0,4-56,4)	0,225	-0,26
48 h	3,9 (-13,8-57,5)	17,4 (-14,1-72,0)	0,782	<-0,147
72 h	7,2 (-10,0-57,1)	25,9 (-10,3-108,5)	0,487	<-0,147

PRÉ, pré-exercício. CARB, carbonilas protéicas. Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H32 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de carbonilas protéicas no plasma, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	2,1 (-9,7-44,1)	-3,8 (-18,5-23,7)
Controle	0,8 (-34,0-44,1)	17,9 (-21,3-29,2)
Valor-p	0,611	0,459
TE	<0,147	-0,18

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H33 – Concentração de leucócitos totais no sangue ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	6,05 \pm 2,14	6,00 \pm 1,69	5,83 \pm 1,52	5,53 \pm 1,61
Controle	5,54 \pm 1,60	5,61 \pm 1,42	5,58 \pm 1,79	5,71 \pm 1,69
Valor-p	0,358	0,424	0,579	0,690
TE	0,22 (-0,44-0,87)	0,23 (-0,43-0,88)	0,15 (-0,51-0,80)	-0,11 (-0,76-0,55)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: d de Cohen. N = 20.

H34 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de leucócitos totais no sangue em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE (IC95%)
24 h	3,1 \pm 20,2	5,8 \pm 30,8	0,779	-0,19 (-0,76-0,55)
48 h	2,8 \pm 30,6	5,6 \pm 39,6	0,769	-0,08 (-0,73-0,58)
72 h	-3,6 \pm 25,1	8,1 \pm 38,9	0,225	-0,36 (-1,01-0,31)

Two-way RM-ANOVA e ^ateste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: d de Cohen (IC, intervalo de confiança 95%). N = 20.

H35 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de leucócitos totais no sangue, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	2,55 \pm 35,6	-2,5 \pm 23,1
Controle	2,6 \pm 32,1	-3,8 \pm 35,4
Valor-p	0,994	0,879
TE	0,00 (-0,66-0,65)	0,04 (-0,61-0,70)

Teste *t* de Student. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen. N = 20.

H36 – Concentração de granulócitos no sangue ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	3,52 \pm 1,61	3,66 \pm 1,10	3,52 \pm 1,24	3,33 \pm 1,22
Controle	3,27 \pm 0,93	3,45 \pm 0,84	3,75 \pm 1,04	3,49 \pm 1,08
Valor-p	0,534	0,568	0,308	0,475
TE	0,16 (-0,50-0,81)	0,17 (-0,49-0,82)	-0,28 (-0,93-0,38)	-0,28 (-0,93-0,38)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen. Dados convertidos para log₁₀. N = 20.

H37 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de granulócitos no sangue em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	8,7 (-15,2-27,7)	10,5 (-1,4-22,3)	0,932	<0,147
48 h	-3,9 (-19,4-31,5)	13,6 (-8,6-32,8)	0,325	<-0,147
72 h	-1,1 (-20,0-9,1)	-4,7 (-18,7-45,8)	0,304	<-0,147

Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H37 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de granulócitos no sangue, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle (n=20).

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	-16,1 (-27,5-25,1)	1,2 (-13,4-11,1)
Controle	6,5 (-7,5-24,7)	-9,0 (-15,3-10,8)
Valor-p	0,246	0,495
TE	<0,147	<0,147

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff.

H38 – Concentração de monócitos no sangue ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	0,84 \pm 0,24	0,88 \pm 0,39	0,8 \pm 0,18	0,87 \pm 0,27
Controle	0,86 \pm 0,26	0,88 \pm 0,26	0,82 \pm 0,24	0,87 \pm 0,30
Valor-p	0,868	0,954	0,803	1,000
TE	-0,05 (-0,73-0,58)	0,00 (-0,65-0,65)	0,09 (-0,56-0,75)	0,00 (-0,65-0,65)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen. N = 20.

H39 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de monócitos no sangue em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p	TE
24 h	6,4 (-22,7-33,3)	2,9 (-25,9-31,4)	1,00	<0,147
48 h	2,9 (-25,9-31,4)	-8,7 (-17,5-27,1)	0,517	<0,147
72 h	0,0 (-12,5-29,8)	0,0 (-18,8-21,3)	0,818	<0,147

Teste de Friedman e teste de Tukey. Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H40 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de monócitos no sangue, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	-4,2 (-18,2-25,9)	0,0 (-14,4-15,7)
Controle	0,0 (-19,6-15,7)	6,30 (-18,6-25,0)
Valor-p	0,442	0,854
TE	<0,147	<-0,147

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H41 – Concentração de linfócitos no sangue ($\times 10^3/\mu\text{L}$) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	1,54 \pm 0,90	1,44 \pm 0,72	1,47 \pm 0,68	1,33 \pm 0,78
Controle	1,41 \pm 0,71	1,34 \pm 0,65	1,21 \pm 0,61	1,34 \pm 0,81
Valor-p	0,526	0,689	0,091	0,910
TE	0,16 (-0,50-0,81)	0,10 (-0,55-0,75)	0,38 (-0,28-1,03)	0,01 (-0,64-0,66)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: d de Cohen. Dados convertidos para \log_{10} . N = 20.

H42 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de linfócitos no sangue em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	-12,5 (-31,4-15,4)	-8,9 (-30,8-28,9)	0,747	<0,147
48 h	-3,3 (-25,4-42,5)	-15,1 (-50,0-28,0)	0,468	0,21
72 h	-7,7 (-51,8-28,3)	-17,5 (-42,5-5,0)	0,818	<-0,147

Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H43 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de linfócitos no sangue, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	2,4 (-15,7–50,0)	-8,7 (-24,4–3,1)
Controle	-5,4 (-23,3–0,0)	4,0 (-13,1–42,1)
Valor-p	0,252	0,417
TE	0,32	-0,31

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H44 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de IL-1 β no soro sanguíneo em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	$\Delta\%$ IL-1 β em relação ao PRÉ			
	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	3,5 (-30,5-90,3)	28,0 (1,6-55,5)*	0,766	-0,21
48 h	-0,2 (-35,4-3,0)	1,7 (-26,7-35,4)	0,609	<0,147
72 h	-16,7 (-53,2-47,5)	20,3 (-24,8-49,1)	0,640	-0,24

IL, interleucina. Teste de Friedman e teste de Tukey. *P < 0,05, comparado ao PRÉ. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H45 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de IL-1 β no soro, em intervalos de tempo após dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	-1,9 (-20,7–8,4)	-10,6 (-44,2–46,0)
Controle	-22,2 (-35,4–2,6)	13,0 (-44,2–46,0)
Valor-p	0,099	0,495
TE	0,23	-0,22

IL, interleucina. Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H46 – Concentração de IL-6 no soro (pg/mL), no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	10,50 ± 7,52	10,05 ± 5,40	9,84 ± 4,81	9,41 ± 3,81
Controle	12,48 ± 5,33	16,31 ± 10,45	14,55 ± 9,43	14,01 ± 6,58
Valor-p	0,067	0,009	0,028	0,032
TE	-0,59 (-1,24-0,09)	-0,66 (-1,31-0,03)	-0,63 (-1,29-0,05)	-0,86 (-1,52-0,16)

IL, interleucina. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tratamento (P = 0,005). Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen. Dados convertidos para log10. N = 20.

H47 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de IL-6 no soro em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	8,7 (-25,8–56,5)	31,8 (-32,8–56,5)	0,523	<-0,147
48 h	-1,7 (-18,8–19,3)	0,5 (-24,4–45,4)	0,523	<-0,147
72 h	-9,9 (-23,9–30,8)	5,2 (-23,9–30,8)	0,442	-0,15

IL, interleucina. Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H48 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de IL-6 no soro, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	1,0 (-30,7–41,8)	-6,4 (-14,0–13,5)
Controle	-1,0 (-31,6–23,9)	12,1 (-18,0–42,3)
Valor-p	0,609	0,369
TE	<0,147	-0,22

IL, interleucina. Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H49 – Concentração do fator de necrose tumoral- α no soro (pg/mL) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
--	-----	------	------	------

Chá mate	12,50 ± 8,42	10,53 ± 6,94	14,54 ± 11,31	14,68 ± 9,51
Controle	17,80 ± 10,61	20,90 ± 13,06	18,23 ± 9,32	17,03 ± 7,71
Valor-p	0,069	0,002	0,094	0,245
TE	-0,80 (-1,45- -0,10)	-0,62 (-1,28-0,06)	-0,54 (-1,19-0,14)	-0,41 (-1,06-0,26)

Two-way RM-ANOVA e teste de Tukey. Efeito do tratamento (P = 0,013). Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen. Dados convertidos para log10. N = 20.

H50 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de TNF- α no soro em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	-7,7 (-41,9–24,1)	21,3 (-32,0–112,4)	0,142	-0,28
48 h	56,9 (-32,2–91,4)	3,6 (-39,3–90,1)	0,932	0,13
72 h	23,3 (-28,2–163,2)	-2,2 (-25,0–163,2)	0,369	0,21

TNF- α , fator de necrose tumoral- α . Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H51 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração TNF- α no soro, em intervalos de tempo após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	31,9 (-38,9–206,4)	-13,1 (-34,8–128,8)
Controle	-10,6 (-34,3–19,8)	-1,7 (-33,6–26,6)
Valor-p	0,054	0,347
TE	0,31	<0,147

TNF- α , fator de necrose tumoral- α . Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 20.

H52 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de PCR no soro em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	-17,3 (-29,6-15,2)	6,3 (-15,1-52,2)	0,211	-0,29
48 h	-27,3 (-78,2-1,9)*	-6,6 (-26,9- -78,2)	0,193	<-0,147
72 h	-27,3 (-48,2- -23,8)	-24,4 (-41,5- -48,2)	0,900	<-0,147

PCR, proteína C-reativa. Teste de Friedman e teste de Tukey. * $P < 0,05$. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. $N = 20$.

H53 – Variação percentual ($\Delta\%$) na concentração de PCR no soro, em intervalos de tempo após o dano muscular, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	-17,1(-27,9–8,8)	-10,7 (-26,1–24,7)
Controle	-9,4 (-28,3–2,7)	-15,3 (-28,5–8,5)
Valor-p	0,900	0,303
TE	<0,147	0,17

PCR, proteína C-reativa. Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. $N = 20$.

H54 – Expressão da proteína CD11b em neutrófilos (IMF) no PRÉ e após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h	48 h	72 h
Chá mate	4310,81 \pm 441,40	4044,56 \pm 697,47	4295,12 \pm 674,88	4379,40 \pm 1045,24
Controle	4358,77 \pm 374,54	4153,67 \pm 705,64	4287,49 \pm 685,93	4116,00 \pm 693,10
Valor-p	0,863	0,695	0,978	0,347
TE	-0,12	-0,04	0,01	0,30

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: d de Cohen. IMF, intensidade média de fluorescência (unidades arbitrárias). $N = 11$.

H55 – Variação percentual ($\Delta\%$) na expressão da proteína CD11b em neutrófilos em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE (IC95%)
24 h	-6,0 \pm 13,9	-4,5 \pm 15,2	0,810	-0,10 (-0,93-0,74)
48 h	-0,2 \pm 13,6	-2,0 \pm 10,9	0,770	0,33 (-1,16-0,53)
72 h	1,5 \pm 21,7	-5,0 \pm 16,8	0,295	0,34 (-0,52-1,16)

Two-way RM-ANOVA e ^ateste de Tukey. Valores em média \pm DP. TE, tamanho do efeito: d de Cohen (IC, intervalo de confiança 95%). $N = 11$.

H56 – Variação percentual ($\Delta\%$) na expressão da proteína CD11b em neutrófilos, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	7,9 ± 18,4	2,9 ± 25,2
Controle	6,2 ± 27,8	-2,3 ± 18,3
Valor-p	0,865	0,554
TE	-0,07 (-0,77-0,90)	0,24 (-0,61-1,07)

Teste *t* de Student. Valores em média ± DP. TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). N = 11.

H57 – Expressão da proteína p47^{phox} em neutrófilos (IMF) no PRÉ após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	PRÉ	24 h-pós	48 h-pós	72 h-pós
Chá mate	49,36 ± 20,90	54,18 ± 22,65	47,83 ± 13,68	66,20 ± 25,38
Controle	61,06 ± 15,70	66,08 ± 33,59	57,09 ± 23,92	66,58 ± 26,03
Valor-p	0,050	0,164	0,365	0,902
TE	-0,70 (-1,35–0,01)	-0,34 (-0,99–0,33)	-0,39 (-1,04–0,28)	0,00 (-0,65–0,65)

PRÉ, pré-dano. *Two-way* RM-ANOVA e teste de Tukey. Valores em média ± DP. Efeito do tratamento (P = 0,047). TE, tamanho do efeito: *d* de Cohen (IC95%). IMF, intensidade média de fluorescência (unidades arbitrárias). Dados convertidos para log10. N = 15.

H58 – Variação percentual (Δ%) na expressão da proteína p47^{phox} em neutrófilos em relação ao pré-dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	Chá mate	Controle	Valor-p ^a	TE
24 h	6,5 (-31,2–38,4)	13,1 (-29,2–34,2)	0,502	<0,147
48 h	-9,8 (-17,2–9,3)	-10,5 (-25,9–10,5)	0,670	<0,147
72 h	29,8 (-11,0–68,1)	7,5 (-26,2–27,8)	0,217	<0,30

Teste de Friedman e teste de Tukey. ^aTeste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%-75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 15.

H59 – Variação percentual ($\Delta\%$) da proteína p47^{phox} em neutrófilos, em intervalos de tempo após o dano muscular excêntrico, nos grupos chá mate e controle.

	24–48 h	48–72 h
Chá mate	-17,0 (-46,2–43,3)	29,3 (6,6–72,0)
Controle	-11,9 (-36,6–17,9)	16,1 (-3,1–44,4)
Valor-p	0,583	0,268
TE	<-0,147	0,24

Teste de Wilcoxon. Valores em mediana (25%–75%). TE, tamanho do efeito: δ de Cliff. N = 15.

APÊNDICE I - Classificação dos indivíduos segundo o nível de atividade física IPAQ

Participante	Caminhada		Moderada		Vigorosa		Classificação
	F	D	F	D	F	D	
1	3	40	4	20	2	60	ATIVO
2	4	20	5	50	-	-	ATIVO
3	5	30	5	30	2	20	ATIVO
4	5	10	6	150	3	120	MUITO ATIVO
5	4	30	5	60	1	60	ATIVO
6	3	45	2	50	1	30	ATIVO
7	5	15	5	45	3	50	MUITO ATIVO
8	3	30	2	50	1	30	ATIVO
9	5	70	1	20	3	210	MUITO ATIVO
10	4	30	2	20	2	20	ATIVO
11	7	40	-	-	-	-	ATIVO
12	7	15	7	15	3	80	MUITO ATIVO
13	5	30	5	60	1	40	ATIVO
14	5	30	5	45	-	-	ATIVO
15	6	70	1	30	-	-	ATIVO
16	7	30	2	20	1	10	ATIVO
17	3	20	2	50	1	30	ATIVO

18	6	20	3	30	3	50	MUITO ATIVO
19	4	45	3	30	1	60	ATIVO
20	3	60	1	30	2	20	ATIVO

IPAQ, Questionário Internacional de Atividade Física. F, frequência (dias/semana); D, duração (minutos/semana).

APÊNDICE J

J1 – Proporção de participantes segundo a adequação^a no consumo de energia e de macronutrientes, nos períodos com o consumo de chá mate ou controle.

	Adequado		Inadequado/ Insuficiente		Excessivo	
	n	%	N	%	N	%
Energia						
Chá mate	9	50,0	9	50,0	0	0
Controle	8	44,4	10	55,6	0	0
Carboidrato						
Chá mate	15	83,3	3	16,7	0	0
Controle	13	72,2	5	27,8	0	0
Proteína						
Chá mate	18	100,0	0	0	0	0
Controle	18	100,0	0	0	0	0
Lipídeos						
Chá mate	16	88,9	0	0	2	11,1
Controle	12	66,7	1	5,5	5	27,8

^aAnálise qualitativa da adequação do consumo individual conforme as respectivas DRIs (IOM, 2005): energia, EAR + 2 DP; carboidrato, 45% a 65% do valor energético total (VET); proteína, 10% a 35% do VET; lipídeo, 25% a 35% do VET. N= 18.

J2 – Proporção de participantes segundo a adequação^a do consumo das vitaminas E, C e A e dos minerais, zinco, cobre, manganês e selênio, nos períodos com o consumo de chá mate ou controle.

	Adequado		Inadequado		Recomendação
	N	%	n	%	
Vitamina E					15 mg/dia *
Chá mate	5	27,8	13	72,2	
Controle	3	16,7	15	83,3	
Vitamina C					90 mg/dia *
Chá mate	9	50,0	9	50,0	
Controle	10	55,6	8	44,4	
Vitamina A ^b					900 µg/dia *
Chá mate	5	27,8	13	72,2	
Controle	4	22,2	14	77,8	
Zinco					11 mg/dia *
Chá mate	12	66,7	6	33,3	
Controle	13	72,22	5	27,8	
Cobre					900 µg/dia *
Chá mate	15	83,3	3	16,7	
Controle	15	83,3	3	16,7	
Manganês					2,3 mg/dia **
Chá mate	11	61,1	7	38,9	
Controle	11	61,1	7	38,9	
Selênio					55 µg/dia *
Chá mate	20	100	0	0	
Controle	20	100	0	0	

^aAnálise qualitativa da adequação do consumo individual conforme as respectivas DRIs (IOM, 2005). ^bEquivalentes de atividade de retinol (RAE). *Recommended Dietary Allowances; **Adequate Intakes. N =18.

10 ANEXOS

ANEXO A - Questionário IPAC - Versão curta

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA

NOME COMPLETO SEM ABREVIACÕES E EM LETRA DE FORMA:

IDADE: _____ **SEXO:** _____ **DATA DE NASCIMENTO:**
 ____/____/____

As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são **MUITO** importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação !

Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez:

1a Em quantos dias da última semana você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** quanto tempo no total você gastou caminhando **por dia?**
horas: _____ Minutos: _____

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar **moderadamente** sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**): dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por **pelo menos 10 minutos contínuos**, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia?** horas: _____ Minutos: _____

3a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração. Dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

3b Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por **pelo menos 10 minutos contínuos** quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia?** horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre (deixa livre ou lazer. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo,

lendo, sentado ou deitado assistindo TV, jogando vídeo game, bate-papo na internet e uso do computador para jogar e estudar. Não inclua o tempo gasto sentado durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana? _____ horas _____ minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana? _____ horas _____ minutos

ANEXO B - Parecer de aprovação do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do consumo de chá mate (*Ilex paraguariensis*) na força muscular e na concentração de marcadores inflamatórios e do estresse oxidativo após exercício excêntrico

Pesquisador: Edson Luiz da Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 16832613.8.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 302.190

Data da Relatoria: 10/06/2013

Apresentação do Projeto:

O projeto intitulado "Efeito do consumo de chá mate (*Ilex paraguariensis*) na força muscular e na concentração de marcadores inflamatórios e do estresse oxidativo após exercício excêntrico" visa "investigar os efeitos do consumo regular de chá mate, durante 10 dias, na força muscular, na expressão gênica e na ativação de neutrófilos e na

concentração plasmática de marcadores da inflamação e do estresse oxidativo de indivíduos adultos (19-30 anos) submetidos a exercícios excêntricos". Em relação à amostra, esta "será selecionada de forma intencional, de modo a atender os seguintes critérios de inclusão: (i) não fumante; (ii) não portador de quaisquer doenças ou processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos; (iii) fisicamente ativos, mas não envolvidos em treinamentos contra-resistência ou aeróbios estruturados nos três meses precedente ao estudo (TROMBOLD et al, 2010); (iv) não usuário de medicamentos; e (v) não usuário de substâncias ergogênicas, tais como creatina, arginina e cafeína, ou suplementos de macro e micronutrientes".

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral