

**EXTRATO HIDROETANÓLICO DA ENTRECASCA DA S. CUMINI (L.) SKEELS
REDUZ O ESTRESSE OXIDATIVO DE RATOS WISTAR
SUBMETIDOS AO TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE**

Roas de Araújo Costa¹, Lúcio Marques Vieira Souza²
Jymmys Lopes dos Santos², Samuel Bruno dos Santos²
Kelly Cristina dos Santos Teixeira², Silvan Silva de Araújo²
Charles dos Santos Estevam²

RESUMO

O exercício físico de alta intensidade pode induzir o estresse oxidativo. Desta forma o uso de antioxidantes surge como alternativa para prevenir ou atenuar esse efeito. O objetivo principal do estudo foi avaliar o efeito de 21 dias de suplementação com extrato hidroetanólico da *S. Cumini* (EHE) em animais submetidos a um protocolo de 3 semanas de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), 5 sessões por semana. Desta forma, foram utilizados ratos Wistar (250-300g) (CEPA: 58/2016). Os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos (n=10): Sedentário (GC), sedentários tratados com EHE (GEHE), animais submetidos ao treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) (GE), animais submetidos ao (HIIT) e tratados com EHE (GE+EHE) e animais submetidos ao (HIIT) e tratados com quercetina (GE+Q). Os resultados demonstraram que o tratamento com EHE foi eficaz em reduzir o dano oxidativo nos tecidos avaliados: GT: 14,49 ± 1,78 vs GT+EHE: 8,16 ± 0,54 nmol EqMDA/mL de sangue, no músculo (GT: 9,61 ± 1,51 vs GT+EHE 7,46 ± 0,69 nmol EqMDA/mg de tecido), fígado (GT: 40,85 ± 7,05 vs GT+EHE: 19,97 ± 5,95 nmol EqMDA/mg de tecido) e coração (GT: 18,06 ± 2,88 vs 12,64 ± 2,37 nmol EqMDA/mg de tecido), enquanto para a quantificação de grupamentos sulfidrilas os animais tratados com EHE tiveram seus grupos tiois preservados. Conclui-se que o tratamento diário durante 21 dias com EHE foi capaz de atenuar o dano oxidativo em ratos wistar submetidos a um protocolo de HIIT durante 3 semanas.

Palavras-chave: Syzygium cumini. Treinamento Intervalado de Alta Intensidade. Produto Natural.

1-Programa de pós-graduação Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão-SE, Brasil.

ABSTRACT

Hydroethanolic extract of *s. Cumini* (l.) Skeels entrecasca reduces wistar rats oxidative stress submitted to intervalled high intensity training

High intensity physical exercise can induce oxidative stress. In this way the use of antioxidants appears as an alternative to prevent or mitigate this effect. The main objective of the study was to evaluate the effect of 21 days of supplementation with *S. cumini* hydroethanolic extract (EHE) in animals submitted to a protocol of 3 weeks of high intensity interval training (HIIT), 5 sessions per week. In this way, Wistar rats (250-300g) (CEPA: 58/2016) were used. The animals were randomly divided into 5 groups (n = 10): Sedentary (CG), sedentary treated with EHE (GEHE), animals submitted to high intensity interval training (HIIT) with EHE (GE + EHE) and animals submitted to (HIIT) and treated with quercetin (GE + Q). The results showed that EHE treatment was effective in reducing oxidative damage in the evaluated tissues: GT: 14.49 ± 1.78 vs GT + EHE: 8.16 ± 0.54 nmol EqMDA / mL of blood in the muscle (GT: 9.61 ± 1.51 vs. GT + EHE 7.46 ± 0.69 nmol EqMDA / mg of liver), liver (GT: 40.85 ± 7.05 vs. GT + EHE: 19.97 ± 5, 95 nmol EqMDA / mg tissue) and heart (GT: 18.06 ± 2.88 vs. 12.64 ± 2.37 nmol EqMDA / mg tissue), while for the quantification of sulfhydryl groups the EHE treated animals had their preserved thio groups. It is concluded that the daily treatment for 21 days with EHE was able to attenuate the oxidative damage in wistar rats submitted to a protocol of HIIT for 3 weeks.

Key words: Syzygium cumini. High Intensity Interval Training. Natural Product.

2-Programa de pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão-SE, Brasil.

INTRODUÇÃO

As EROs são responsáveis por causarem danos oxidativos em biomoléculas alterando suas propriedades funcionais, no entanto, sabe-se que a produção de radicais livres (RL) é fundamental para os processos de sinalização celular responsáveis por induzir adaptações fisiológicas (Pisoschi e Pop, 2015).

Apesar de o organismo humano apresentar um complexo sistema de defesa antioxidante endógeno, que neutraliza os radicais livres, as células podem apresentar desordens fisiológicas, como apoptose, devido ao dano irreparável causado por eles ao DNA (Valko e colaboradores, 2007).

Além disso, é conhecido que a deficiência de alguns nutrientes como vitamina C, E e zinco associada ao exercício de alta intensidade contribui para a depleção do sistema de defesa antioxidante levando a uma consequente redução da capacidade do organismo para remover as EROs e prevenir lesões oxidativas em biomoléculas (Groussard e colaboradores, 2003).

Durante o exercício físico o músculo ativo sofre momentâneos estados de isquemia e reperfusão, mecanismo esse responsável pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Moscardini e colaboradores, 2012). No entanto, mesmo em repouso as células musculares produzem EROs continuamente, sendo geradas pelos músculos esqueléticos, pelas mitocôndrias e no citosol da célula muscular (Powers, Jackson, 2008).

O treinamento intervalado de alta intensidade, HIIT, é caracterizado por envolver repetidas sessões de exercício relativamente intenso intercalados por períodos de recuperação (Giballa e Mcgee, 2008).

Embora a produção de radicais livres pelo exercício físico seja necessária para diversos processos de sinalização celular incluindo a expressão de enzimas antioxidantes (Steinbacher e Eckel, 2015).

Tem se observado que indivíduos submetidos a exercícios de alta intensidade com maiores frequências são suscetíveis ao estresse oxidativo e imunodepressão (Varamenti e colaboradores, 2013).

Sendo assim, novas estratégias vêm sendo desenvolvidas no campo do exercício físico e da saúde, entre as quais destacam-se a utilização de antioxidantes como vitamina C, E e constituintes fitoquímicos, como os polifenóis presentes em frutas, verduras e

legumes e/ou chás provenientes de vegetais (Myburgh, 2014).

Neste sentido, foi observado em seres humanos, que a ingestão aguda ou regular de alimentos ricos em polifenóis podem prevenir ou reduzir possíveis danos celulares causados pelo aumento de EROs e estresse oxidativo, em resposta ao esforço físico de alta intensidade (Panza, 2008).

A *Syzygium cumini* (L.) skeels é conhecida popularmente como jambolão uma espécie bastante encontrada em regiões com o clima tropical, como no Brasil. Demonstra ter efeito hipoglicemiante e antioxidante, cujo são associados a grande concentração de compostos fenólicos em sua composição química. Onde a entrecasca apresenta maiores teores de compostos fenólicos em relação a outros órgãos vegetais (Moreira, 2014).

Dessa forma o uso do seu extrato pode ser utilizado para atenuar o estresse oxidativo e dano celular resultante do treinamento de alta intensidade. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo é avaliar o efeito redox do extrato hidroetanólico da entrecasca da *Syzygium cumini* (L.) skeels no dano oxidativo gerado pelo treinamento intervalado de alta intensidade.

MATERIAIS E MÉTODOS**Coleta do material vegetal**

O material vegetal (entrecasca) foi coletado na cidade de São Cristóvão, 10° 55.154'S; 37° 2.795'O, Sergipe. Esta cidade é situada no leste sergipano apresenta o clima subúmido, encontra-se a 40 metros de altura e seu bioma é predominantemente vegetação litorânea com resíduos de mata atlântica e cerrado.

Preparação do extrato bruto vegetal

A entrecasca da planta *S. Cumini* foi submetida à secagem em estufa de circulação de ar a 40°C durante sete dias, posteriormente triturada em moinho de facas e reduzida a pó. O pó da casca foi macerado em solvente extrator etanol (98% v/v), à temperatura ambiente, por três extrações sucessivas, em intervalos de 10 dias (Cechinel Filho e Yunes, 1998).

O extrato foi filtrado a vácuo e, posteriormente, concentrado em evaporador rotatório (LS Logen Scientific, Lagos, Nigéria)

sob pressão reduzida, à temperatura máxima de 50°C. O extrato bruto seco (extrato hidroetanólico - EHE) foi armazenado em frasco de vidro e conservado ultrafreezer a -37°C.

Testes fitoquímicos quantitativos

Determinação de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi determinado por meio de espectroscopia UV utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia descrita por Chaves e colaboradores (2007). Para isso, o EHE foi preparado na concentração de 1 mg/mL de metanol de onde tomou-se uma alíquota de 100 µL e adicionou-se a 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 6 mL de água destilada, agitando-se a mistura por 1 min.

Em seguida, 2 mL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 15% foram adicionados a mistura e agitada novamente por 30 seg, o volume reacional foi completado com mais 5 mL de água destilada. A absorbância das amostras foi medida após 2 horas, em cubetas de vidro, a 750 nm, contra o branco constituído de todos os reagentes menos o extrato.

Para determinar o teor de fenóis foi feito a interpolação da absorbância da amostra contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 200 µg/mL) e expresso como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. Todas as análises foram realizadas em triplicata com três repetições e os resultados expressos como valores médios e desvio padrão (DP).

Determinação de flavonoides

Para determinar os flavonoides totais no EHE da *S. Cumini* foi utilizado o método de Mbaebie e colaboradores (2012), caracterizado pela formação de um complexo flavonoide-alumínio. Um volume de 0,5 mL da solução etanólica de cloreto de alumínio (AlCl₃) a 2% foi misturado a 0,5 mL de solução metanólica do extrato (1 mg/mL).

Essa mistura foi incubada por 1 h para o desenvolvimento de coloração amarelada indicando a presença de flavonoides. A absorbância foi mensurada a 420 nm usando espectrofotômetro UV-VIS. O conteúdo total de flavonoides foi determinado a partir de uma curva de calibração construída com padrão quercetina e expresso como µg de EQ (equivalente de quercetina) por mg de extrato.

Todas as análises foram realizadas em triplicata com três repetições e os resultados expressos como valores médios ± DP.

Atividade antioxidante *in vitro*

Capacidade Sequestradora do radical DPPH•

A avaliação da atividade antioxidante do EHE foi realizada segundo a metodologia descrita por Soler-Rivas e colaboradores (2000). Nesta metodologia, os parâmetros da atividade antioxidante foram determinados pela reação do radical estável 2,2-difenil-1-picrilidrazina (DPPH•) em solução metanólica com os controles (positivo e negativo) e o extrato, através do monitoramento do decréscimo da absorbância do radical (Brand-Williams e colaboradores, 1995) em espectrofotômetro UV-VIS (Bioespectro modelo SP22).

Assim, 50 mL de solução estoque de DPPH• em metanol na concentração de 40 µg/mL foi preparada, mantida sob refrigeração e protegida da luz. Em seguida, o EHE foi solubilizado em metanol obtendo uma solução estoque de 500 µg/mL, a partir de então alíquotas foram retiradas e realizadas diluições para obter concentrações finais de 30, 50, 80, 100, 120 e 150 µg/mL que foram adicionadas a soluções de DPPH• perfazendo um volume reacional de 3 mL.

A leitura das absorbâncias utilizadas para a construção da curva de calibração do DPPH• foi realizada a 515 nm, medidas em cubetas de vidro com percurso óptico de 1 cm, sendo que como branco foram utilizados metanol e EHE e como controle positivo o ácido gálico. As medidas de absorbância foram efetuadas em triplicata nos tempos de 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min (Chaves e colaboradores, 2007).

A partir dos valores de absorbância e da equação da curva de calibração, no tempo de 60 min para cada concentração testada, foi determinada a porcentagem de DPPH• remanescente, calculado de acordo com a equação de Brand-Williams e colaboradores (1995):

$$\%DPPH_{REM} = [DPPH]_T / [DPPH]_{T_0} \times 100$$

Em que [DPPH]_T é a concentração do radical no meio reacional após a reação com a fração e [DPPH]_{T0} é a concentração inicial de DPPH.

Os parâmetros para expressar a atividade antioxidante foram: a concentração efetiva de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (CE₅₀), o percentual de inibição (PI) e o índice de atividade antioxidante (IAA).

A CE₅₀ foi calculada através do %DPPH_{REM} no tempo de 60 min, contrastando com as concentrações das amostras (Chaves e colaboradores, 2007) sendo expressa em µg/mL ± DP.

O PI foi obtido pela conversão das absorbâncias do EHE na concentração de 30 µg/mL no tempo de 60 min.

O IAA foi determinado conforme Scherer e Godoy (2009), pela equação:

$$\text{IAA} = \% \text{DPPH}^*_{\text{REM}} (\mu\text{g/mL}) / \text{CE}_{50} (\mu\text{g/mL})$$

Avaliação da atividade redox TBARs *in vitro*

A capacidade do EHE de inibir a lipoperoxidação foi determinada através do monitoramento da produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), como o malondialdeído (MDA) gerado em meio rico em lipídio, a quantificação de TBARs foi realizada de acordo com o protocolo descrito Budni e colaboradores (2007).

Inicialmente, uma alíquota (1000 µL) de gema de ovo (1% v/v) foi misturada em tampão fosfato 20 mmol/L (pH 7,4) e homogeneizada em ultrassom (10 seg na potência 4), sendo, em seguida, acrescentada a alíquotas de 100 µL de soluções do EHE em diferentes concentrações (50, 100, 150 e 200 µg/mL), preparadas no momento do experimento. A partir de então, foi acrescentado 100 µL da solução de sulfato ferroso (FeSO₄, 0,15 mol/L) para induzir a lipoperoxidação.

Em seguida, os tubos de ensaio foram incubados a 37°C por 30 min para possibilitar a ocorrência de indução do dano celular.

Depois do período de incubação, 500 µL de ácido tricloroacético (TCA a 15%) foram adicionados às misturas para precipitar as proteínas, que foram removidas após a centrifugação a 2000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi recolhido e 500 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA a 0,67%) foram adicionados aos tubos de ensaio que, em seguida, foram aquecidos a 95°C durante 60 min.

A leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada a 532 nm em

bioespectro UV-VIS, modelo SP22. O ensaio foi realizado em triplicata com três repetições. Como controle positivo, o Trolox foi usado nas mesmas concentrações substituindo o EHE e para controle negativo foi utilizado tampão fosfato. Os resultados foram expressos em percentual de inibição e formação de MDA.

Ensaio Biológico *in vivo*

Ratos

Foram utilizados 50 ratos Wistar com peso entre 250 - 350g, obtidos a partir do biotério setorial do departamento de fisiologia da Universidade Federal de Sergipe – UFS, os quais ficaram aleatoriamente alojados em gaiolas apropriadas sob temperatura controlada (22 ± 3°C) com ciclo claro/ escuro de 12 h (luzes acesas, 06h00 – 18h00), com livre acesso à alimentação específica para roedores e água de torneira.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFS (protocolo 58/2016).

Grupos experimentais

Os animais foram divididos em 5 grupos com n=10 em cada, divididos da seguinte forma:

1 - Grupo Controle (GC): composto por animais sedentários, que não receberam tratamento via oral;

2 - Grupo Extrato (GEHE): composto por animais sedentários que receberam EHE da entrecasca da *S. Cumini* (200 mg/kg de peso corporal via oral) durante 21 dias e não foram submetidos ao protocolo de treinamento;

3 - Grupo Exercitado (GE): composto por animais que foram submetidos ao protocolo de exercício e não receberam o extrato;

4 - Grupo Exercitado + Extrato (GE+EHE): composto por animais receberam o EHE da entrecasca da *S. Cumini* (200 mg/kg de peso corporal via oral) durante 21 dias e foram submetidos ao protocolo de treinamento.

5 - Grupo Exercitado + Quercetina (GE+Q): composto por animais que receberam quercetina (25 mg/kg de peso corporal via oral – controle positivo) durante 21 dias e foram submetidos ao protocolo de treinamento.

Protocolo de Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT)

Os animais foram submetidos ao exercício de natação, para isto foram utilizados cilindros de PVC preto (120 cm de profundidade e 80 cm de diâmetro) com água na profundidade de 50 cm e temperatura média de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, os pesos foram fixados em um colete localizado no dorso do animal. Para execução do exercício os animais foram colocados individualmente nos cilindros de PVC com água.

Os animais foram aclimatados em ambiente aquático com sessões de natação de

duração de 20 min sem carga, por 3 vezes, na semana que antecedeu a o início do protocolo de treinamento. O protocolo de HIIT foi de acordo com Terada e colaboradores (2001), que consistiu de 10 a 14 períodos de natação com duração de 20 seg e intervalos de 10 seg entre cada período, realizado 5 dias por semana durante 3 semanas, sendo a carga inicial de 10% do peso corporal, aumentando 2% da carga semanalmente.

Após 24h do término do ensaio biológico, os animais foram anestesiados adequadamente para a coleta de amostras do tecido sanguíneo, muscular (gastrocnêmio), hepático e cardíaco para posteriores análises.

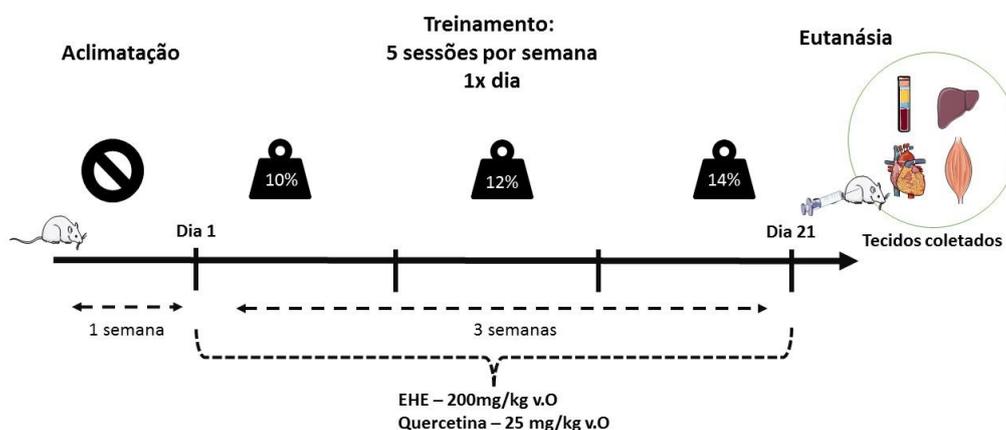


Figura 1 - Desenho experimental.

Preparo do material biológico

Os animais foram anestesiados com cetamina/xilazina (75mg/kg + 10mg/kg i.p) (Flecknell, 2009) e o sangue (± 5 mL) foi coletado através de punção cardíaca e então foram eutanasiados por dessangramento sob anestesia.

O sangue, após a coleta, foi imediatamente centrifugado a $4000 \times g$ por 15 min a $\pm 4^\circ\text{C}$ e o sobrenadante armazenado a $\pm -70^\circ\text{C}$.

Paralelamente, os órgãos (músculo, fígado e coração) foram removidos e, em seguida, lavados 3 vezes com solução de cloreto de potássio (KCl) 1,15%, secos e pesados. Logo após, foram homogeneizados onde cada grama de tecido foi misturada com 5 mL de KCl + 10 μL de fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF - 100 mmol. L^{-1}) + 15 μL de solução Triton a 10% e centrifugada a

$3000 \times g$ por 10 min a $\pm -70^\circ\text{C}$ para análises posteriores dos marcadores de estresse oxidativo.

Determinação da atividade redox protetora *in vivo*

Determinação de TBARS *in vivo*

A oxidação de lipídios foi determinada pela medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com o método descrito por Lapenna e colaboradores (2001).

Alíquotas de 200 μL das amostras (sangue e órgãos) foram adicionadas a uma mistura de 400 μL formada por partes iguais de ácido tricloroacético (TCA) 15%, HCl 0,25 N e TBA 0,375%, mais 2,5 mM de butilato de hidroxitolueno (BHT) e 40 μL de dodecil sulfato de sódio (SDS) 8,1%, sendo aquecida por 30

min a 95° C em estufa. O pH da mistura foi ajustado para 0,9 com HCl concentrado. BHT foi usado para prevenir a peroxidação lipídica durante o aquecimento. Após resfriamento à temperatura ambiente e adição de 4 mL de butanol, o material foi centrifugado a 800 xg por 15 min a ± 4 °C e a absorbância do sobrenadante foi medida em 532 nm. O coeficiente de extinção molar utilizado foi $1,54 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o resultado de TBARS expresso em nmol Eq MDA/mL de soro para as amostras de sangue ou em nmol Eq MDA/mL soro para os órgãos.

Determinação de sulfidrilas totais (tióis)

Os grupos sulfidrilas (SH) são estruturas associadas a proteínas e, portanto, susceptíveis a danos oxidativos. Sua quantificação revela o nível antioxidante do tecido. A determinação dos grupos sulfidrilas foi realizada conforme a metodologia descrita por Faure e Lafond (1995) em que alíquotas de 50 μL de amostras (sangue e órgãos) foram misturados em 1 mL de tampão tris-EDTA, pH 8,2. Em seguida, foi realizada a primeira leitura (A) no espectrofotômetro em 412 nm. Após a leitura, as amostras foram transferidas para tubos de ensaio e misturas a 20 μL de DTNB 10 mM diluído em metanol (4 mg/mL), ficando em repouso no escuro. Ao final de 15 min, a segunda leitura de absorbância (A2) foi realizada. A concentração

de SH foi calculada conforme equação: $(A2 - A1) - B \times 1,57 \text{ mM} \times 1000$ sendo o resultado expresso em nmol.mg⁻¹ tecido.

Análise estatística

Os dados obtidos foram expressos em média e desvio padrão (DP). Para observar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para avaliar a significância das diferenças entre as médias foram utilizados os testes *t* de Student e ANOVA de uma ou duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Para todos estes procedimentos foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, E.U.A).

RESULTADOS

No presente estudo, a quantificação de fenóis totais do EHE mostrou que a entrecasca de *S. Cumini* possui $4,65 \pm 0,14 \mu\text{g}$ EAG/mg de extrato enquanto o teor de flavonoides foi $11,56 \pm 0,02 \mu\text{g}$ de EQ/mg de extrato.

A Tabela 1 ilustra a capacidade sequestradora do radical DPPH por meio dos parâmetros selecionados para esta análise. O percentual de inibição (PI) do EHE em concentração de 30 $\mu\text{g/mL}$ apresentou valor de 90,28% comparável ao controle positivo, ácido gálico, cujo PI foi de 93%.

Tabela 1 - Atividade antioxidante *in vitro* do EHE da *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Amostras	PI (%)	CE ₅₀ ($\mu\text{g/mL} \pm \text{DP}$)	IAA
EHE	90,28	$13,47 \pm 0,01$	1,04
Ácido gálico	93,00***	$2,90 \pm 0,05$ ***	13,81***

Legenda: O percentual de inibição (PI) das amostras a (30 $\mu\text{g/mL}$), bem como a concentração eficiente em 50% (CE₅₀) foi calculado no tempo de 60 min. O índice de atividade antioxidante (IAA) foi calculado dividindo o valor da concentração final da amostra pelo CE₅₀ no tempo de 60 min. Diferenças estatísticas foram determinadas pelo Teste t de student's ($p < 0,05$) *** $p < 0,001$ vs EHE.

O IAA para o EHE foi considerado forte já que este índice classifica os antioxidantes como: fraco quando IAA $< 0,5$, moderado quando $0,5 < \text{IAA} < 1,0$, forte, quando $1 > \text{IAA} < 2$ e muito forte quando IAA > 2 .

O EHE da *S. Cumini* foi eficaz em reduzir a concentração de MDA formado em todas as concentrações testadas ($p < 0,001$) (Figura 2).

Dentre elas, a concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$ ($1,10 \pm 0,14 \text{ nmol EqMDA/mL}$) apresentou maior percentual de inibição, no entanto não foi significativamente maior quando comparado com a dose de 150 $\mu\text{g/mL}$ ($1,42 \pm 0,15 \text{ nmol EqMDA/mL}$), embora tenha sido significativamente maior que as demais doses menores 50 $\mu\text{g/mL}$ ($1,82 \pm 0,25 \text{ nmol EqMDA/mL}$) e 100 $\mu\text{g/mL}$ ($1,76 \pm 0,25 \text{ nmol EqMDA/mL}$) ($p < 0,05$).

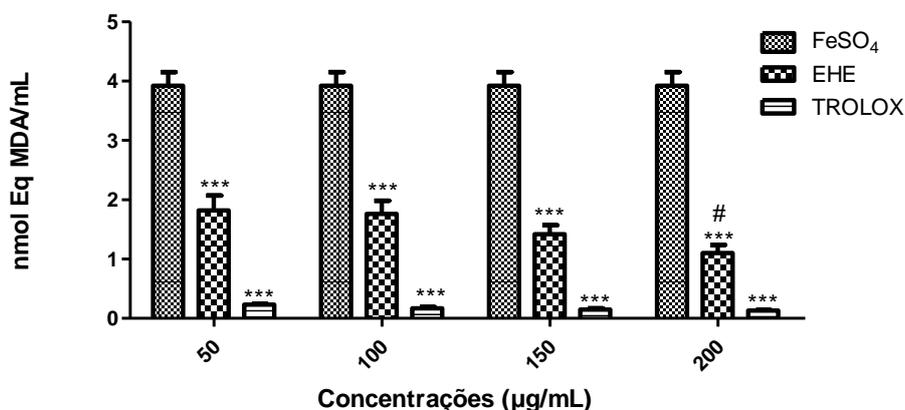


Figura 2 - Efeito do extrato hidroetanólico da entrecasca (EHE) de *Syzygium cumini* (L.) skeels sobre formação de MDA induzido por FeSO₄. *** p<0,001 vs FeSO₄, # p<0,05 vs EHE (50 µg/mL, 100 µg/mL). Determinadas pela ANOVA de duas vias seguido do pós-teste e Bonferroni.

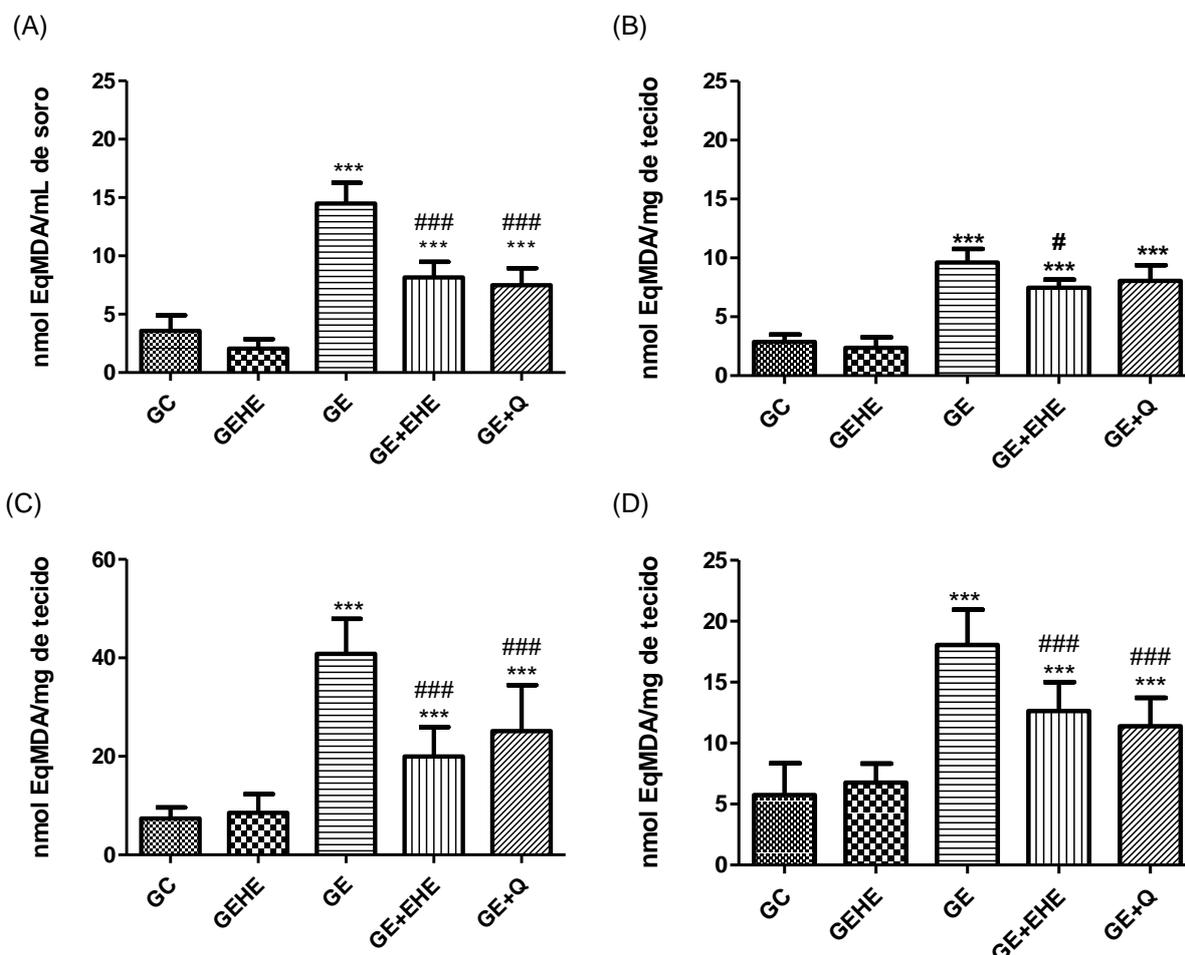


Figura 3 - Efeito do consumo do extrato hidroetanólico da entrecasca (EHE) da *Syzygium cumini* (L.) skeels sobre a concentração de malondialdeído (MDA) em tecido sanguíneo (A) tecido muscular (gastrocnemius) (B), tecido hepático (C) e tecido cardíaco (D): GC – grupo controle, GEHE – Grupo Extrato, GE – Exercitado, GE+EHE – Grupo Exercitado + Extrato, GE+Q – Grupo Exercitado + Quercetina, (n=10). *** p< 0,001 vs GC, # p<0,05 vs GE. ### p<0,001 vs GE. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA de uma via com pós teste de Bonferroni.

O HIIT utilizado no presente estudo mostrou-se eficiente em induzir o dano oxidativo nos animais, foi observado um aumento de 305,6% na produção de MDA nos animais do grupo exercitado (GE) ($14,49 \pm 1,78$ nmol EqMDA/mL) $p < 0,001$, em relação ao grupo controle (GC) ($3,57 \pm 1,33$ nmol EqMDA/mL).

O tratamento com EHE (200 mg/kg) nos animais sedentários (GEHE) ($2,05 \pm 0,79$ nmol EqMDA/mL), demonstrou não induzir a peroxidação lipídica quando comparado ao GC. No entanto, o tratamento com EHE (200 mg/kg) nos animais exercitados (GE+EHE) ($8,16 \pm 0,56$ nmol EqMDA/mL) foi significativamente eficaz na redução do dano oxidativo dos lipídios em 43,6% comparado ao GE ($p < 0,001$).

A mesma resposta foi observada nos animais que foram tratados com quercetina (25 mg/kg) (GE+Q) ($7,48 \pm 0,60$ nmol EqMDA/mL) apresentando redução de 48,3% em comparação ao GE ($p < 0,001$) (Figura 3a).

Quanto ao tecido muscular (gastrocnêmio), observou-se aumento significativo de 259,2% na concentração de MDA nos animais pertencentes ao GE ($9,61 \pm 1,61$ nmol EqMDA/mg) em relação ao GC ($2,85 \pm 0,63$ nmol EqMDA/mg) ($p < 0,001$).

No entanto, no GE+EHE ($7,46 \pm 0,69$ nmol EqMDA/mg) a oxidação lipídica foi significativamente menor 26,5% ($p < 0,05$) quando comparado a GE.

O tratamento com quercetina preveniu em 16,23 % a peroxidação lipídica GE+Q ($8,05 \pm 1,34$ nmol EqMDA/mg) no entanto, essa redução não significativa estatisticamente.

Paralelamente, no tecido hepático, o HIIT aumentou significativamente em 452,6% a lipoperoxidação GE ($40,85 \pm 7,05$ nmol EqMDA/mg) ($p < 0,001$), enquanto o tratamento dos animais com EHE da *S. Cumini* foi significativo em atenuar o dano oxidativo de lipídios em 51,2% GE + EHE ($19,97 \pm 5,95$ nmol EqMDA/mg) em relação ao GE ($p < 0,001$). Quanto ao GE+Q ($25,14 \pm 9,33$ nmol EqMDA/mg) observamos uma redução significativa de 38,41% comparado a GE ($p < 0,001$).

Não houve diferença significativa entre GC ($7,40 \pm 2,32$ nmol EqMDA/mg) e GEHE ($8,53 \pm 3,77$ nmol EqMDA/mg) (Figura 3c).

Referente ao dano oxidativo em lipídios no tecido cardíaco, o presente estudo demonstrou que o HIIT (GE) ($18,06 \pm 2,88$ nmol EqMDA/mg) foi significativamente eficaz

em induzir a lipoperoxidação 215% em relação a GC ($5,73 \pm 2,60$ nmol EqMDA/mg) ($p < 0,001$).

Entretanto, a administração do EHE (GE+EHE) ($12,64 \pm 2,37$ nmol EqMDA/mg) conduziu a uma diminuição significativa na concentração de MDA em 30% ($p < 0,001$) enquanto com a quercetina (GE+Q) ($11,38 \pm 2,34$ nmol EqMDA/mg) foi de 37% ambos comparados ao GE ($p < 0,001$) (Figura 3d).

Vale ressaltar que ambos os tratamentos citados anteriormente foram estatisticamente iguais.

O conteúdo de grupamento sulfidrilado avaliado no presente estudo indica indiretamente, o recrutamento do sistema de defesa antioxidante das glutatonas para o tecido testado.

Neste sentido, observou-se que o consumo do EHE não alterou de forma significativa o conteúdo de tióis nos animais do GEHE ($247,53 \pm 28,36$ nmol/mL) em relação ao GC ($242,82 \pm 35,85$ nmol/mL) em tecido sanguíneo.

No entanto, o sistema foi bastante utilizado nos animais GE ($148,84 \pm 24,66$ nmol/mL), havendo uma redução significativa de 40% ($p < 0,001$), enquanto que os grupos GE+EHE ($237,91 \pm 14,19$ nmol/mL) e GE+Q ($227,48 \pm 25,16$ nmol/mg) preservaram os grupamentos sulfidrilados em tecido sanguíneo ($p < 0,001$), não houve diferença significativa entre GC e GE+EHE (Figura 4a).

No que se refere ao tecido muscular (gastrocnêmio), o GE ($255,75 \pm 20,47$ nmol/mg) demonstrou diminuição de 44,7% dos grupamentos sulfidrilados totais quando comparado ao GC ($462,86 \pm 59,64$ nmol/mg) ($p < 0,001$). Os animais exercitados e tratados com EHE (GE+EHE) ($344,81 \pm 34,52$ nmol/mg) preservou em 34,7% a oxidação dos grupos tióis quando comparado ao GE ($p < 0,001$) (Figura 4b).

Enquanto no tecido hepático, observou-se o consumo de 44,6% do GE ($291,92 \pm 39,66$ nmol/mg) comparado ao GC ($537,07 \pm 82,17$ nmol/mg) ($p < 0,001$) demonstrando a ação do HIIT sobre os grupos tióis, enquanto que o consumo diário tanto do EHE (GE+EHE) ($380,74 \pm 26,27$ nmol/mg) quanto da quercetina (GE+Q) ($408,62 \pm 27,65$ nmol/mg) inibiram significativamente a oxidação dos grupamentos sulfidrilados em 30% ($p < 0,05$) e 40% ($p < 0,001$) respectivamente em relação ao GE (Figura 4c).

No tecido cardíaco, observou-se uma redução significativa de grupamentos

sulfidrilas em GE ($134,83 \pm 15,14$ nmol/mg) 47,2% quando comparamos a GC ($255,71 \pm 37,79$ nmol/mg) ($p < 0,001$). O GE+EHE ($166,54 \pm 37,10$) preveniu 23% da oxidação dos grupos tióis, embora não tenha sido estatisticamente

significativa essa diferença. Enquanto GE+Q ($210,36 \pm 31,99$ nmol/mg) foi eficaz significativamente em preservar os grupamentos sulfidrilas 55,7% em relação ao GE ($p < 0,01$) (Figura 4d).

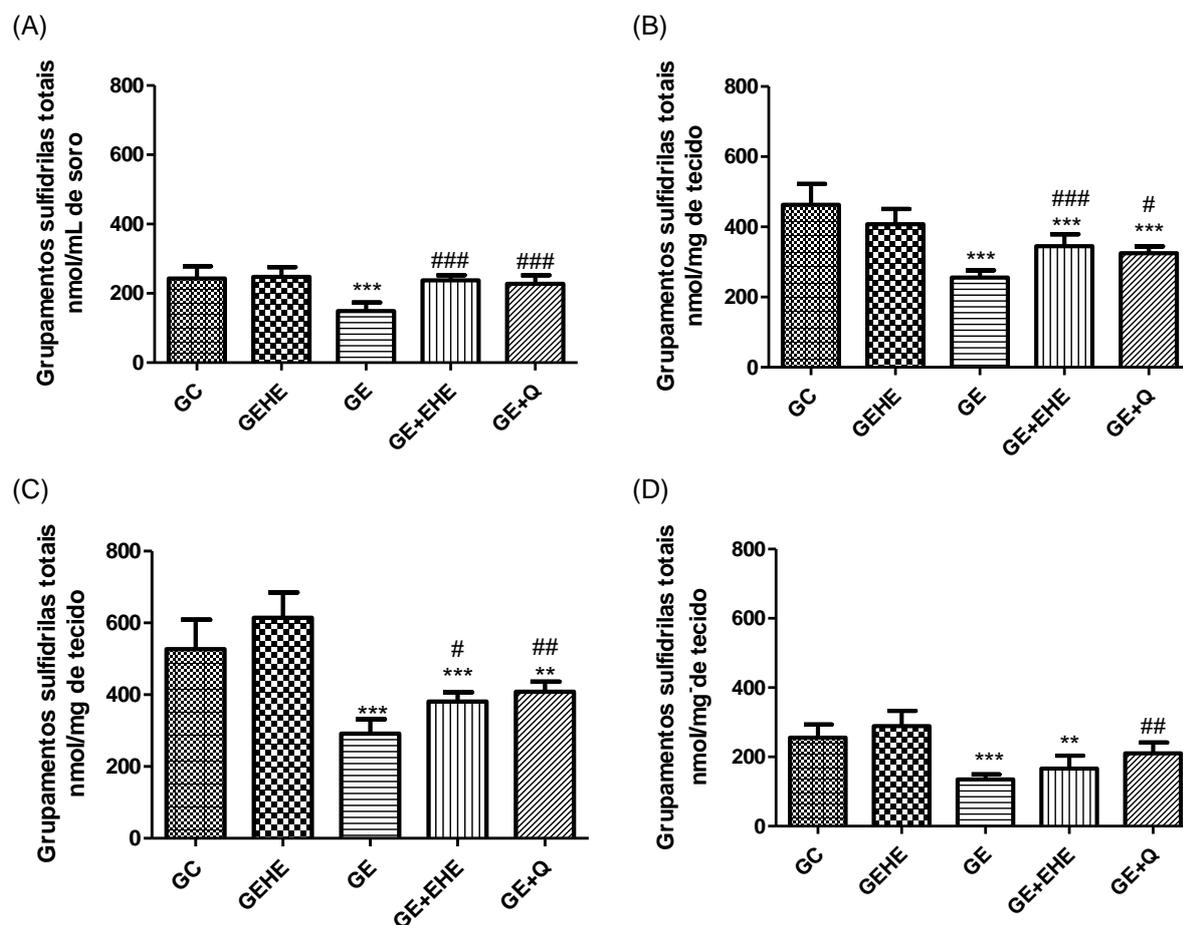


Figura 4 - Efeito do consumo do extrato hidroetanólico (EHE) da entrecasca de *Syzygium cumini* (L.) sobre a concentração de grupamentos sulfidrilas no tecido sanguíneo (A), tecido muscular (gastrocnêmio) (B), tecido hepático (C), tecido cardíaco (D): GC – grupo controle, GEHE – Grupo Extrato, GE – Exercitado, GE+EHE – Grupo Exercitado + Extrato, GE+Q – Grupo Exercitado + Quercetina, cada grupo foi composto por 10 animais. ** $p < 0,01$ vs GC, *** $p < 0,001$ vs GC, # $p < 0,05$ vs GE, ## $p < 0,01$ vs GE, ### $p < 0,001$ vs GE. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA de uma via com pós teste de Bonferroni.

DISCUSSÃO

Nosso estudo demonstrou que o tratamento com o extrato hidroetanólico da entrecasca da *S. cumini* reduziu significativamente os marcadores de dano oxidativo em ratos wistar submetidos ao treinamento de natação intervalado de alta intensidade. A *Syzygium cumini* apresenta em sua composição química uma diversidade de

constituintes fitoquímicos dentre eles destacam-se os polifenóis (Ayyanar e colaboradores, 2012; Moreira, 2014; Sharma e colaboradores, 2008).

Os compostos polifenólicos são compostos hidrossolúveis produzidos através do metabolismo secundário das plantas, possuem em sua estrutura química hidroxilas ligadas a seus anéis aromáticos. São atribuídas as hidroxilas a atividade

antioxidante dos compostos fenólicos (Bravo, 1998; Sureda e colaboradores, 2014). Os antioxidantes fenólicos mais comuns na natureza são os flavonoides (Manach e colaboradores, 2004).

Deste modo, ao analisarmos o teor de constituintes fenólicos do EHE da *S. Cumini*, encontrados no presente estudo, o EHE demonstra ser 96,2% superior ao observado em estudo realizado com extrato hidroetanólico da folha da mesma espécie (2,37 mg EAG/g) (Verber e colaboradores, 2015).

Dessa forma, estes resultados corroboram com o estudo realizado por Moreira (2014), cujo foi demonstrado que o EHE é superior em teor de compostos fenólicos em comparação com o mesmo tipo de extrato da folha.

Em relação aos demais órgãos vegetais da mesma espécie os frutos demonstram concentrações menores de fenóis totais ao observado no presente estudo (1,48 mg EAG/g) (Faria e colaboradores, 2011) e (1,85 mg EAG/g) (Ruffino e colaboradores, 2010). No entanto, para os teores fenólicos o extrato metanólico das folhas da *S. Cumini* ($610 \pm 9,03$ mg EAG/g), demonstrou ser maior ao EHE.

A literatura demonstra uma associação direta entre os constituintes fenólicos e uma série de propriedades medicinais, tais como a atividade antioxidante (Shahidi e Ambigaipalan, 2015).

O potencial da ação antioxidante dos compostos fenólicos está relacionado com a quantidade de hidroxilas presente em sua estrutura (Heim e colaboradores, 2002).

Dessa forma, esses compostos atuam reduzindo o radical livre o tornando estável após doarem um elétron da hidroxila ligada à sua estrutura para esse radical (Markovic e colaboradores, 2012).

Foi medida a capacidade antioxidante do EHE da *S. cumini* pela redução do radical DPPH•, um radical livre que produz uma coloração violeta em etanol, que quando associado a uma substância antioxidante ele é reduzido, havendo desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância (Chaves e colaboradores, 2007).

O EHE da *S. Cumini* apresentou ser superior quando comparado com extrato metanólico da semente da mesma espécie quando comparado o percentual de inibição de ambos frente ao DPPH• (Atale e colaboradores, 2017).

O percentual de inibição indica o quanto indica o quanto de radicais livres a substância antioxidante foi capaz de capturar em uma concentração e um determinado tempo.

Em adição, o EHE da *Syzygium cumini* mostrou maior CE₅₀ frente a outros tipos de extrato e frações da mesma espécie (Ruan e colaboradores, 2008).

A CE₅₀ (Concentração eficiente 50) remete a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração de DPPH• em 50%. Assim, sugerimos que o EHE apresenta maior atividade antioxidante em comparação aos demais extratos de órgãos vegetais diferentes da mesma espécie, por necessitar de menos material vegetal para apresentar uma ação antioxidante semelhante.

Esta variação no potencial antioxidante dos diferentes tipos de extrato da mesma espécie, pode estar relacionado aos diferentes métodos de extração, uma vez que, o tipo de método utilizado influencia diretamente na quantidade de compostos fenólicos no extrato, determinando assim, sua atividade antioxidante (Spagolla e colaboradores, 2009).

No presente estudo utilizamos o sulfato ferroso como indutor químico da peroxidação de lipídios *in vitro*, a lipoperoxidação catalisada por íons de Fe²⁺, ocorre de modo que, o peróxido lipídico (LOOH) reage com o íon metálico, formando alcóxila (LO•), o radical hidroxila (OH•) e Fe³⁺ (Ferreira e Matsubara, 1997).

O EHE da *Syzygium cumini* demonstrou ser eficaz em todas as concentrações testadas para inibir a peroxidação lipídica induzida por sulfato ferroso. Composto como flavonoides presentes no EHE da *S. Cumini* apresentam propriedades quelantes, capazes de neutralizar os íons de Fe²⁺, pela complexação da hidroxila ligada ao carbono 3 do anel fenólico B do flavonoide com o íon metálico, dessa forma inibindo a Reação de Fenton, impedindo a peroxidação de lipídios (Arora e colaboradores, 1998; Kumamoto e colaboradores, 2001; Markovic e colaboradores, 2012).

Embora os resultados *in vitro* demonstraram um efeito antioxidante promissor do EHE, sua aplicação *in vivo* se faz necessária. Para isso, ratos Wistar foram submetidos ao treinamento de natação intervalado de alta intensidade e tratados com EHE, com o objetivo de observar o

comportamento dos marcadores de dano oxidativo frente ao tratamento.

O treinamento intervalado de alta intensidade usando a natação foi realizado utilizando uma carga inicial 10% do peso corporal do animal chegando até 14% na última semana.

A intensidade do treinamento foi definida pela carga, o qual a literatura demonstra que cargas acima de 6% do peso corporal do animal na natação é tido como exercício de alta intensidade (Cunha e colaboradores, 2009; Gobatto e colaboradores, 2001).

Variações de intensidade, tipo e duração do exercício influencia diretamente na produção de espécies reativas e conseqüentemente no dano oxidativo causado por ele. Exercícios de alta intensidade demonstram resultar em maior oxidação de lipídios no fígado, músculo e sangue (Dos Santos e colaboradores, 2014; Lamou e colaboradores, 2016).

Durante a atividade contrátil ocorre o aumento intracelular de O_2^* , peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico (NO), sugere-se que a ação da enzima NADPH oxidase na membrana plasmática, citosol celular e retículo sarcoplasmático no músculo esquelético e cardíaco e também nos túbulos transversos localizados músculo esquelético seja a principal fonte de produção de RL associada ao exercício físico (Jackson, 2015; Powers e colaboradores, 2011).

Ratos submetidos ao treinamento de natação de intervalado de alta intensidade demonstraram ter sua produção de H_2O_2 pela mitocôndria após 6 semanas de treinamento (Ramos-Filho e colaboradores, 2015).

Uma vez que, o excesso de H_2O_2 dentro da célula envolve a maior produção do radical OH^* e conseqüente dano oxidativos irreversíveis a lipídios, DNA e proteínas (Pajares e colaboradores, 2015; Schieber e Chandel, 2014).

Embora utilizamos em nosso estudo foi utilizado um período de treinamento menor, a frequência entre as sessões também foi menor, diminuindo assim o tempo de recuperação entre elas, o que possibilitou um maior estresse nos animais.

Contrário à nossa hipótese, Stanovejic e colaboradores (2016) observaram que a diminuição do tempo de recuperação entre as sessões de natação contínua não resultou em estresse oxidativo no tecido cardíaco e

sanguíneo de ratos após 12 semanas de treinamento.

No entanto, os animais realizaram todo o período de treinamento sem carga adicional e passaram por um período de adaptação de 8 semanas até realização do protocolo de indução ao *overtraining*, que consistiu em 3 semanas.

Diferentemente, nossos animais passaram por um período de aclimatação, dando início em seguida ao treinamento com carga e havendo progressão da mesma a cada semana.

Quanto aos efeitos do tratamento com EHE da *S. Cumini* em ratos submetidos ao treinamento de natação de alta intensidade, nosso extrato foi eficaz em atenuar a oxidação de lipídios em todos os órgãos avaliados, corroborando com esse efeito antioxidante, a oxidação dos grupamentos sulfidrilas também foi atenuada no fígado, músculo e sangue desses animais.

A peroxidação lipídica é um importante indicador de dano oxidativo, consiste basicamente, na degradação membrana celular por ação dos radicais livres, sendo mensurada pela formação de MDA, através de sua complexação com ácido tiobarbitúrico. A avaliação do dano a lipídios é relacionada positivamente a condições patológicas como doença renal crônica, doença cardiovasculares e diabetes (Garcia e colaboradores, 2013).

Os grupamentos sulfidrilas remete a utilização do sistema de defesa antioxidante da glutathionas. A molécula de glutathionas possui em sua estrutura o grupo tiol responsável por numerosas funções no sistema biológico, tendo maior importância no sistema de defesa antioxidante (Finaud e colaboradores, 2016).

Dados da literatura corroboram com nossos resultados sobre o efeito antioxidante do tratamento com extratos da *S. Cumini*. Animais diabéticos tratados com *S. cumini* tiveram redução na concentração de MDA e aumento da concentração de enzimas antioxidantes tais como SOD, CAT e GPx (Baldissera e colaboradores, 2016; Sharma e colaboradores, 2012).

Quanto ao uso de extratos vegetais para redução do estresse oxidativo, Dos Santos e colaboradores (2014) constou que o tratamento com o extrato hidroetanólico da folha da *Bowdichia virgilioides* reduziu tanto as concentrações de MDA quanto as de CK no tecido muscular e sanguíneo.

Embora em nosso estudo não foram avaliados marcadores de dano muscular, a

suplementação a partir de fontes de polifenóis demonstra está associada tanto com a redução do estresse oxidativo, quanto com a diminuição desses marcadores (Beluirandi e colaboradores, 2012; Herrlinger e colaboradores, 2015).

De fato, os flavonoides podem atuar reduzindo o dano oxidativo pela diminuição da atividade da enzima NADPH oxidase, as hidroxilas contidas no anel fenólico B dos flavonoides são capazes de se ligarem ao domínio regulatório C1B da proteína quinase C δ (PKC δ), dessa forma, impedindo a fosforilação do domínio regulatório p47^{phox} da NADPH oxidase, diminuindo a sua atividade (Kongpichirchoke e colaboradores, 2015).

Dessa forma, a suplementação com o extrato da *S. cumini*, pode surgir como possível estratégia para a redução do estresse oxidativo aliado ao exercício, uma vez que, atletas submetidos a maiores cargas de treinamento demonstram elevação nos biomarcadores de estresse oxidativo, dano muscular e diminuição da performance (Lewis e colaboradores, 2010; Marin e colaboradores, 2013; Varamenti e colaboradores, 2013).

CONCLUSÃO

O EHE da *S. Cumini* reduziu os marcadores de dano oxidativo em tecidos de ratos submetidos ao protocolo de treinamento de natação intervalado de alta intensidade durante o período de 3 semanas. Portanto, sugere-se que esse efeito seja devido aos constituintes fenólicos encontrados em sua composição química.

REFERÊNCIAS

1-Arora, A.; Nair, M. G.; Strasburg, G. M. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology & Medicine*. Vol. 24. 1998. p. 1355-1363.

2-Atale, N.; Saxena, S.; Nirmala, J. G., Narendhirakannan, R. T.; Mohanty, S.; Rani, V. Synthesis and Characterization of Syzygium cumini Nanoparticles for Its Protective Potential in High Glucose-Induced Cardiac Stress: a Green Approach. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. Vol. 181. Num. 3. 2017. p. 1140-1154.

3-Ayyanar, M.; badu-subash, P. Syzygium cumini (L.) Skeels: A review of its

phytochemical constituents and traditional uses. *Asian Pacific Journal of Topical Biomedicine*. Vol. 2. 2012. p. 240-246.

4-Baldissera, G.; Sperotto, N. D.; Rosa, H. T.; Henn, J. G.; Peres, V. F.; Moura, D. J.; Roehrs, R.; Denardin, E. L.; Dal Lago, P.; Nunes, R. B.; Saffl, J. Effects of crude hydroalcoholic extract of *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves and continuous aerobic training in rats with diabetes induced by a high-fat diet and low doses of streptozotocin. *Journal Ethnopharmacology*. Vol. 26, 2016.

5-Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss-Technology*. Vol. 28. 1995. p. 25-30.

6-Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional safety. *Annual Review of Nutrition*. Vol. 56. 1998. p. 317-333.

7-Budni, P.; Petronilho, F. C.; Citadini-Zanette, V.; Marcones, C.; Zoch, C.; Z.; Reginatto, F. H.; Dal-Pizzol, F. Estudos preliminares da atividade antioxidante do extrato hidroetanólico de folhas jovens e adultas de *Tabebuia heptaphylla*. *Latin American Journal of Pharmacy*. Vol. 26. 2007. p. 394-398.

8-Cechinel Filho, V.; Yunes, R. A.; Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificações estruturais para otimização da atividade. *Química Nova*. Vol. 21. 1998.

9-Chaves, M. H.; Souza, C. M. M.; Rocha E Silva, H.; Vieira-Jr, G. M.; Ayres, M. C. C.; Costa, C. L. S.; Araújo, D. S.; Cavalcante, L. C. D.; Barros, E. D. S.; Araújo, P. B. de M.; Brandão, M. S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*. Vol. 30. 2007. p. 341-355.

10-Cunha; R. R.; Cunha, V. N. C.; Segundo, P. R.; Moreira, S. R.; Kokubun, E.; Campbell, C. S. G.; Oliveira, R. J.; Simões, H. G. D. Determination of the lactate threshold and maximal blood lactate steady state intensity in aged rats. *Cell Biochemistry and Function*. Vol. 27. 2009. p. 351-357.

11-Dos Santos, J. L.; Dantas, R. E. A.; Lima, C. L.; Araújo, S. S.; De Almeida, E. C. V.;

- Marçal, A. C.; Estevam, C. S. Protective effect of a hydroethanolic extract from *Bowdichia virgilioides* on muscular damage and oxidative stress caused by strenuous resistance training in rats. *Journal of International Society of Sports Nutrition*. Vol. 11. 2014. p. 1-10.
- 12-Faria, A. F.; Marques, M. C.; Mercadante, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. *Food Chemistry*. Vol. 126. 2011. p. 1571-1578.
- 13-Faure, P.; Lafond, J. L. Measurement of plasma sulphhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. *Birkhäuser Verlag*. 1995. p. 237-248.
- 14-Ferreira, A. L. A.; Matsubara, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*. Vol. 43. 1997. p. 61-68.
- 15-Flecknell, P. *Laboratory Animal Anaesthesia*. 3ª ed. Londres: Academic press. 2009. 298 p.
- 16-Finaud, J.; Lac, G.; Filaire, E. Oxidative stress; relationship with exercise and training. *Sports Medicine*. Vol. 36. Num. 4. 2006. p. 327-358.
- 17-Garcia, C. S.; Grotto, D.; Bulcão, R. P.; Moro, A. M.; Roehrs, M.; Valentini, J.; Freitas, F. A. de. Paniz, C.; Bubols, G. B.; Charão, M. F. Evaluation of lipid damage related to pathological and physiological conditions. *Drug and Chemical Toxicology*. Vol. 36. 2013. p. 306-312.
- 18-Giballa, M. J.; Mcgee, S. L. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exercise and Sports Science Reviews*. Vol. 36. 2008. p. 58-63.
- 19-Gobatto, C. A.; Mello, M. A. R.; Sibuya, C. Y.; Azevedo, J. R. M.; Santos, L. A.; Kokubun, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. Vol. 130. 2001. p. 21-27.
- 20-Groussard, C. Rannou-Bekono, F.; Machefer, G.; Chevanne, M.; Vincent, S.; Sergeant, O.; Cillard, J.; Grats-Delamarche, A. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*. Vol. 89. Num 1. 2003. p. 14-20.
- 21-Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J. Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. Vol. 13. 2002. p. 572-582.
- 22-Herrlinger, K. A.; Chirouzes, D. M.; Ceddia, M. A. Supplementation with a polyphenolic blend improves post-exercise strength recovery and muscle soreness. *Food & Nutrition*. Vol. 59. 2015. p. 1-10.
- 23-Jackson, M. J. Redox regulation of muscle adaptations to contractile activity and aging. *Journal Applied of Physiology*. Vol. 119. 2015. p. 163-171.
- 24-Kongpichitchoke, T.; Hsu J.L.; Huang, T.C. Number of Hydroxyl Groups on the B-Ring of Flavonoids Affects Their Antioxidant Activity and Interaction with Phorbol Ester Binding Site of PKC δ C1B Domain: In Vitro and in Silico Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 63. Num. 18. 2015. p. 4580-4586.
- 25-Kumamoto, M.; Sonda, T.; Nagayama, K.; Tabata, M. Effect of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. Vol. 65. 2001. p. 126-136.
- 26-Lamou, B.; Taiwe, G. S.; Hamadou, A.; Houlray, J.; Atour, M. M.; Tan, P. V. Antioxidant and antifatigue properties of the aqueous extract of *Moringa oleifera* in rats subjected to forced swimming endurance test. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016. p. 1-9.
- 27-Lapenna, D.; Ciofani, G.; Pierdomenico, S. D.; Giamberardino, M. A.; Cuccurullo, F. Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Radical Biology & Medicine*. Vol. 21. 2001. p. 331-335.
- 28-Lewis, N. A.; Howatson, G.; Morton, K.; Hill, J.; Pedlar, C. R. Alterations in redox homeostasis in the elite endurance athlete. *Sports Medicine*. Vol. 45. 2015. p. 379-409.

- 29-Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 79. 2004. p. 727-747.
- 30-Marin D. P.; Bolin, A. P.; Campoio, T. R.; Guerra, B. A.; Otton R. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: Implications for sport training monitoring. *International Immunopharmacology*. Vol. 17. 2013. p. 462-470.
- 31-Markovic, J. M. D.; Markovic, Z. S.; Pasti, I. A.; Brdaric, T. P.; Popovic-Bijelic, A.; Mojovic, M. A joint application of spectroscopic, electrochemical and theoretical approaches in evaluation of the radical scavenging activity of 3-OH flavones and their iron complexes towards different radical species. *Dalton Transactions*. Vol. 41. 2012. p. 7295-7303.
- 32-Mbaebie, B. O.; Edeoga, H. O.; Afolayan, A. J. Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia Lafitolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol. 10. 2012. p. 118-124.
- 33-Moreira, L. N. Perfil químico e atividades biológicas dos extratos e frações das folhas e das entrecascas de *Syzygium cumini* (L) Skeels. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia de Recursos Naturais. Universidade Federal de Sergipe. São Cristovão. 2014.
- 34-Moscardini, F.; Barbosa, E. H.; Garcia, E. F.; Borges, A. P. O.; Bachur, J. A.; Quemelo, P. R. VOL. Efeito da cinesioterapia na lesão isquêmica e reperfusão em ratos. *Acta Ortopédica Brasileira*. Vol. 20. 2012. p. 131-135.
- 35-Pajares, M.; Jiménez-Moreno, N.; Dias, I. H. K.; Debele, B.; Vucetic, M.; Fladmark, K. E.; Basaga, H.; Ribaric, S.; Milisav, I.; Cuadrado, A. Redox control of protein degradation. *Redox Biology*. Vol. 6. 2015. p. 409-420.
- 36-Panza, V. S. P.; Wazlawik, E.; Schütz, R. G.; Comin, L.; Hecht K. C.; Silva, E. L. Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained man. *Nutrition*. Vol. 24. 2008. p. 433-442.
- 37-Pisoschl, A. M.; Pop, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a Review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Vol. 97. 2015. p. 55-74.
- 38-Powers, S. K.; Talbert, E. E.; Adhietty, P. J. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *The Journal of Physiology*. Vol. 589. Num. 9. 2011. p. 2129-2138.
- 39-Powers, S. K.; Jackson, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiology Review*. Vol. 88. 2008. p. 1243-1276.
- 40-Ramos-Filho, D.; Chicaybam, G.; Souza-Ferreira, E.; Martinez, C. G.; Kurtenbach, E.; Casimiro-Lopes, G.; Galina, A. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles. *Plos One*. Vol. 10. 2015. p. 1-20.
- 41-Ruan, Z. P.; Zhang, L. L.; Lin, Y. M. Evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium cumini* leaves. *Molecules*. Vol. 13. 2008. p. 2545-2556.
- 42-Ruffino, M. do S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S. de; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F.; Mancini-Filho, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*. Vol. 121. 2010. p. 96-1002.
- 43-Scherer, P.; Godoy, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*. Vol. 112. 2009. p. 654-658.
- 44-Schieber, M.; Chandel, N. S. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Current Biology*. Vol. 24. 2014. p. R453-R462.
- 45-Shahidl, F.; Ambigaipalan, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*. Vol. 18. 2015. p. 820-897.
- 46-Sharma, A. K.; Bharti, S.; Kumar, R.; Krishnamurthy, B.; Bhatia, J.; Kumari, S.; Arya, S. D. *Syzygium cumini* Ameliorates Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction via Modulation of PPAR γ , Dyslipidemia, Oxidative

Stress, and TNF- α in Type 2 Diabetic Rats. *Journal of Pharmacological Science*. Vol. 119. 2012. p. 205-213.

47-Sharma, B. S.; Viswanath, G.; Salunke, R.; Roy, P. Effect of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia Jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *Food Chemistry*. Vol. 110. p. 697-705. 2008.

48-Soler-Rivas, C.; Espín, J. C.; Wichers, H. J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analysis*. Vol. 11. p. 330-338. 2000.

49-Spagolla, L. C.; Santos, M. M.; Passos, L. M. L.; Aguiar, C. L. Extração alcoólica de fenólicos e flavonoids totais de mirtilo "Rabbiteye" (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. Vol. 30. p. 59-64. 2009.

50-Stanojevic, D.; Jakovljevic, V.; Barudzic, N.; Zivkovic, V.; Srejoivic, I.; Ilic, K. P.; Cubrilo, D.; Ahmetovic, Z.; Peric, D.; Rosic, M.; Radovanovic, D.; DJORDJEVIC, D. Overtraining does not induce oxidative stress and inflammation in blood and heart of rats. *Physiology Research*. Vol. 65. 2016. p. 81-90.

51-Steinbacher, P.; Eckl, P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*. Vol. 5. p. 356-377. 2015.

52-Sureda, A.; Tejada, S.; Bibiloni, M. D. M.; Tur, J. A.; Pons, A. Polyphenols: Well Beyond the Antioxidant Capacity: Polyphenol Supplementation and Exercise-Induced Oxidative Stress and Inflammation. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. Vol. 15. p. 373-379. 2014.

53-Terada, S.; Yokozeki, T.; Kawanaka, K.; Ogawa, K.; Higuchi, M.; Ezaki, O.; Tabata, I. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. Vol. 90. p. 2019-2024. 2001.

54-Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M. T. D.; Mazur, M.; Telser, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The*

International Journal of Biochemistry & Cell Biology. Vol. 39. p. 44-84. 2007.

55-Varamenti, E. I.; Kyparos, A.; Veskokoukis, A. S.; Bakou, M.; Kalaboka, S.; Jamurtas, A. Z.; Koutedakis, Y.; Kouretas, D. Oxidative stress, inflammation and angiogenesis markers in elite female water polo athletes throughout a season. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 61. p. 3-8. 2013.

56-Verber, J.; Petrini, L. A.; Andrade, L. B.; Siviero, J. Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. Vol. 17. p. 267-273. 2015.

E-mails dos autores:

roas.araujo@gmail.com

profedf.luciomarkes@gmail.com

jymmyslopes@yahoo.com.br

samuelbruno@gmail.com

kelly.cris.teixeira@gmail.com

silvan.ssa@gmail.com

cse.ufs@gmail.com

Autor para correspondência:

Charles dos Santos Estevam.

Cidade Universitária "Prof. José Aloísio de Campos".

AV. Marechal Rondon, s/n. Jardim Rosa Elze.

São Cristóvão, Sergipe, Brasil.

CEP: 49100-000.

Recebido para publicação em 02/03/2019

Aceito em 21/04/2019