

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

FLÁVIA RASMUSSEN FARIA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA DE *CURCUMA*
LONGA L. SOBRE MARCADORES DE INFLAMAÇÃO E
DANO MUSCULAR APÓS UMA MEIA MARATONA**

GOIÂNIA
2016

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG E NO BANCO DE
TESES DA CAPES**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) e a Capes a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG) e banco de teses Capes, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	FLÁVIA RASMUSSEN FARIA				
E-mail:	flaviarasmussen@hotmail.com				
Vínculo empregatício do autor					
Agência de fomento:	Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior			Sigla:	CAPES
País:	BRASIL	UF:	GO	CNPJ:	
Título:	EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA DE CURCUMA LONGA L. SOBRE MARCADORES DE INFLAMAÇÃO E DANO MUSCULAR APÓS UMA MEIA MARATONA				
Palavras-chave:	Curcuma Longa L. Dano muscular; inflação, exercício físico				
Título em outra língua:	EFFECT OF SUPPLEMENT CURCUMA CHRONIC LONG L. ON FLASH MARK-PAINS AND MUSCLE DAMAGE AFTER A HALF MARATHON				
Palavras-chave em outra língua:	Curcuma Longa L. muscle damage; inflation, exercise				
Área de concentração:	Nutrição e saúde				
Data defesa: (17/03/2016)					
Programa de Pós-Graduação:	NUTRIÇÃO E SAÚDE				
Orientador (a):	JOÃO FELIPE MOTA				
E-mail:	jfemota@gmail.com				
Co-orientador (a):*	Patricia Borges Botelho; Marcelo Saldanha Aoki				
E-mail:	patriciaborges.nutri@gmail.com				

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

Capítulos. Especifique: _____


Outras restrições: _____

Liberação para ambos (Capes e BDTD/UFG) Liberação apenas para BDTD/UFG

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat. _____

Data: __28__ / __04__ / __2016__ Assinatura do (a) autor (a)



¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

FLÁVIA RASMUSSEN FARIA

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA DE *CURCUMA LONGA L.* SOBRE MARCADORES DE INFLAMAÇÃO E DANO MUSCULAR APÓS UMA MEIA MARATONA

Dissertação de Mestrado apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Orientador:

Prof. Dr. João Felipe Mota

Co-orientadores:

Profa. Dra. Patrícia Borges Botelho

Prof. Dr. Marcelo Saldanha Aoki

Linha de pesquisa:

Diagnóstico e Intervenção Nutricional em Saúde

Financiamento: CNPQ (484023/2013-6)

GOIÂNIA
2016

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a),
sob orientação do Sibi/UFG.

Rasmussen Faria, Flávia

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA DE CURCUMA LONGA L. SOBRE MARCADORES DE INFLAMAÇÃO E DANO MUSCULAR APÓS UMA MEIA MARATONA [manuscrito]/ Flávia Rasmussen Faria. 2016. CIX, 109 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. João Felipe Mota; co-orientadora Dra. Patricia Borges Botelho; co-orientador Dr. Marcelo Saldanha Aoki.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Nutrição (Fanut), Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas.

1. curcuma. 2. exercício físico. 3. inflamação. 4. dano muscular. 5. dor muscular.

I. Mota, João Felipe, orient. II. Borges Botelho, Patricia, co orient. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

FLÁVIA RASMUSSEN FARIA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA DE
CURCUMA LONGA L. SOBRE MARCADORES DE
INFLAMAÇÃO E DANO MUSCULAR APÓS UMA MEIA
MARATONA**

**Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 17 de Março de 2016, pela
Banca Examinadora constituída pelos membros:**

Prof. Dr. Adriano Eduardo Silva Lima
UFPE

Prof. Dr. Paulo Roberto Viana Gentil
FEFD/UFG

Prof. Dr. João Felipe Mota
FANUT/UFG (orientador)

Membros suplentes:

Prof. Dr.
Gustavo Eduardo Pimentel
FANUT/UFG

Prof. Dr. Cláudio André Barbosa de Lira
FEFD/UFG

Dedico este trabalho aos meus pais por sempre acreditarem e respeitarem todas as minhas decisões, e ao meu noivo Pedro Euler por sempre me apoiar e estar presente em todos os momentos desse estudo

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre me impulsionar e dar forças para continuar.

À minha Mãe Rita e ao meu Pai Gilberto por acreditarem em meus sonhos.

Ao Professor João Felipe Mota pelos ensinamentos paciência e perseverança, por me conceder total confiança na realização desde projeto.

À Enilza, minha sogra, que mesmo sem eu pedir fez o possível para apoiar.

Ao professor Raphael Martins por acreditar, apoiar e incentivar minhas realizações e fazer com que eu nunca desista dos meus objetivos.

À aluna de Doutorado Aline pela participação efetiva em todas as partes do projeto.

Aos coorientadores Dra. Patricia Borges Botelho e Dr. Marcelo Saldanha Aoki por suas contribuições.

À toda equipe do LABINCE, em especial os alunos Ronyson, Alcides, Tatyane Letícia, Lucas, Marina e Camila.

Ao laboratório de Biopek da Faculdade de Farmácia, em especial a professora Doutora Kênnia Rezende e o aluno Alisson Antunes.

Ao laboratório LAFICE de Presidente prudente, em especial o professor Doutor Fabio Lira e aos alunos de doutorado Barbara e Neto.

À todos os voluntários dessa pesquisa, sem vocês nada disso seria possível!

À CAPES, pela bolsa concedida.

Ao CNPq pelo financiamento deste projeto.

RESUMO

O exercício físico possui a capacidade de aumentar a atividade antioxidante do organismo, em contrapartida, quando praticado de forma intensa, aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio e a inflamação, podendo causar danos musculares. A curcumina, um componente amarelo-alaranjado do açafrão, é derivado da planta cúrcuma (*Cúrcuma Longa L.*), e tem sido amplamente estudada devido à sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória. Objetivo: Avaliar os efeitos da suplementação crônica de cúrcuma sobre os marcadores de inflamação e de dano muscular após uma meia maratona. Metodologia: Este estudo foi dividido em duas fases. Na primeira fase foi realizado um ensaio clínico *crossover* com *washout* de sete dias. Nove participantes do sexo masculino foram suplementados com baixa (1,5g), média (3,0g) e alta (6,0g) dosagem de cúrcuma. Amostras de sangue foram coletadas em jejum até 120 min após a suplementação para avaliar as concentrações plasmáticas de curcumina e a capacidade antioxidante. Na segunda fase do estudo foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo controlado com duração de 34 dias. Vinte e oito corredores foram suplementados com placebo (GP, 1,5g de celulose, n = 14) ou cúrcuma (GS, 1,5g de cúrcuma, n = 14). Ao final de 30 dias de suplementação, os participantes realizaram uma prova de meia maratona (21 km). Foram avaliados o desempenho físico, as concentrações de creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), interleucinas 6 e 10 (IL-6, 10), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e a dor muscular após alongamento e palpação do quadríceps e bíceps femoral. Resultados fase 1: Os indivíduos apresentaram média de idade de $26,8 \pm 1,3$ anos e índice de massa corporal de $23,3 \pm 0,7$ kg/m². As concentrações de curcumina e a capacidade antioxidante não diferiram entre os tempos de coleta de sangue e as diferentes dosagens de cúrcuma. Fase 2: A média de idade dos corredores foi de $34,1 \pm 7,1$ anos em GS e $36,0 \pm 9,1$ anos em GP. A suplementação de cúrcuma aumentou o desempenho dos atletas, no entanto sem diferenças entre os grupos. As concentrações de IL-6, IL-10, MCP-1, ALT e LDH aumentaram após a meia maratona, enquanto que CK e AST apresentaram elevação após 24h da competição, em ambos os grupos. GS mostrou maiores concentrações de IL-10 quando comparado ao GP (190% vs. 116%, p < 0,05). A sensação de dor muscular na palpação e no alongamento do quadríceps antes da corrida foi menor em GS quando comparado ao GP. GS também apresentou menor dor muscular após palpação do bíceps femoral 48h após a meia maratona. O desempenho. Conclusões: Na fase 1, as concentrações plasmáticas de curcumina e a capacidade antioxidante não apresentaram aumento proporcional à dose administrada. Na fase 2, a suplementação de cúrcuma não diminuiu o dano muscular, entretanto foi observada melhora no desempenho, aumento nas concentrações de IL-10 e redução na sensação de dor.

Palavras chave: cúrcuma, exercício físico, inflamação, dano muscular, dor muscular.

EFFECT OF SUPPLEMENT CHRONIC CURCUMA LONG L. ON INFLAMMATION MARKERS AND MUSCLE DAMAGE AFTER A HALF MARATHON

ABSTRACT

Physical exercise increase the antioxidant capacity of the individual, on the other hand, frequent performance of high intensity or exhaustive physical exercises may increase reactive oxygen species and inflammation, resulting in muscle damage. Curcumin, a yellow-orange component of turmeric, is derived from the turmeric plant (*Curcuma Longa L.*), and has been studied due to their antioxidant capacity and anti-inflammatory. Objective: To evaluate the effects of *Curcuma Longa L.* supplementation on markers of inflammation and muscle damage after a half marathon. Methodology: This study consisted of two stages. In the first, it was carried a crossover clinical trial (washout period of seven days). 9 males were supplemented with low (1.5g), medium (3.0g) and high (6.0g) dosages of *Curcuma longa L.* Blood samples were collected to measure curcumin plasma concentrations and antioxidant capacity. In the second stage, it was performed a double-blind, randomized clinical trial, (34-day). The placebo group (PG) (n = 14) and supplemented (SG) (n = 14) received 1.5 g of cellulose and 1.5 g of *Curcuma longa L.*, respectively. After 30 days, participants performed a half marathon race (21 km). Blood samples were collected to evaluate CK, LDH, ALT, AST, IL-6, IL-10, MCP-1 and myoglobin. Furthermore, it was evaluate the muscle pain and performance. Results Phase 1: The mean age was 26.8 ± 1.3 years and the body mass index (BMI) was $23.31 \pm 0,75\text{kg} / \text{m}^2$. There were no differences between curcumin concentration and the time and the different dosages of *Curcuma longa L.* ($p > 0.05$). Results Phase 2: The mean age was GS: 34.14 ± 7.18 , GP: 36 ± 9.19 . Both groups increased the CK, LDH, AST, IL-6, MCP-1, IL-10 and myoglobin concentrations after the run, showing that the protocol was sufficient to generate damage. SG decreased the pain sensation and increased IL-10 concentrations, compared to the PG. Conclusions: Phase 1: Low dose supplementation showed a maximum concentration of plasma curcumin, but no statistical difference when compared to others dosages. Curcumin plasma concentrations did not increase proportional to the dose administered. Step 2: *Curcuma Longa L.* did not decrease muscle damage after a half-marathon race, however supplementation improved performance, increasead Il-10 concentrations and reduced muscle soreness.

Keywords: turmeric, exercise, inflammation, muscle damage, muscle soreness.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico

ALT: Alanina aminotransferase

AP-1: Ativador de proteína 1

AST: Aspartato aminotransferase

ATP: Adenosina trifosfato

CK: Creatina Kinase

COX2: Ciclo oxigenase 2

DMT: Dor muscular de início tardio

ERO: Espécie Reativa de Oxigênio

GGT: Gama glutamil transferase

IL: Interleucina

iNOS: Óxido Nítrico Sintase Induzível

JAK/STAT: Sinal transdutor e ativador da transcrição proteica

LDH: Lactato desidrogenase

MCP-1: Proteína quimiotática de monócitos 1

NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleotidio fosfato oxidase

NF-KB: Fator Nuclear Kappa B

PCR: Proteína C Reativa

STAT3: Sinal e ativador da transcrição 3

TNT- α : Fator de Necrose Tumoral

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	10
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 PROCESSO OXIDATIVO, INFLAMATÓRIO E DANO MUSCULAR PROVOCADOS PELO EXERCÍCIO EXTENUANTE	12
2.2 CURCUMA	18
2.3 CURCUMA E EXERCÍCIO	20
3 OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL	23
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 DELINEAMENTO FASE 1	24
4.1.2 SUPLEMENTAÇÃO	25
4.1.3 PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO BIOANÁLITICO HPLC-FLD PARA ANÁLISES DE CURCUMINA EM PLASMA HUMANO.....	26
4.1.4 QUANTIFICAÇÃO DAS COCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CURCUMINA APÓS SUPLEMENTAÇÃO DOSAENS DE <i>CURCUMA LONGA L</i>	28
4.1.5 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	29
4.2.1 DELINEAMENTO FASE 2	30
4.2.2 LOCAL DE ESTUDO E PROCEDIMENTOS ÉTICOS	30
4.2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	30
4.2.4 POPULAÇÃO E AMOSTRAGEM	31
4.2.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	32
4.2.6 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR.....	33
4.2.7 PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE ESTRESSE E DANO MUSCULAR	34
4.2.8 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	35
4.2.9 TESTE DE 1 REPETIÇÃO MÁXIMA.....	36
4.2.10 TESTE DE LÉGER.....	36
4.2.11 AVALIAÇÃO DE DOR MUSCULAR	37
4.2.12 AVALIAÇÕES LABORATÓRIAS	37
4.2.13 ANÁLISES ESTATÍSTICA	38
REFERÊNCIAS	39
CAPÍTULO 2- ARTIGO CIENTÍFICO 1	48
INTRODUÇÃO	50
MATERIAL E MÉTODOS	51

RESULTADOS	52
DISCUSSÃO	53
GRÁFICOS E TABELAS	57
REFERÊNCIAS	59
CAPÍTULO 3- ARTIGO CIENTÍFICO 2	61
INDRODUÇÃO	63
MATERIAL E MÉTODOS	65
RESULTADOS	67
DISCUSSÃO	68
GRÁFICOS ETABELAS.....	71
REFERÊNCIAS.....	76
CAPÍTULO 4- ARTIGO CIENTÍFICO 2	82
INDRODUÇÃO	81
MATERIAL E MÉTODOS	82
RESULTADOS	84
DISCUSSÃO	85
GRÁFICOS E TABELAS	88
REFERÊNCIAS	90
CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
APENDICE	94
ANEXO	102

CAPITULO 1

1 INTRODUÇÃO

A prática regular de exercícios físicos promove benefícios à saúde, destacando-se a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis e o menor risco de morte por todas as causas (SIDDIQUI et al., 2010). Todavia, é importante destacar que estes benefícios são induzidos pela prescrição adequada dos exercícios físicos (WAGNER et al., 2009). Em contrapartida, o treinamento físico extenuante, com intensidade elevada, de longa duração ou com pouco tempo de descanso pode influenciar na função imunológica, saúde e até mesmo comprometer o desempenho físico (WALSH et al., 2011).

Durante a atividade contrátil do músculo há aumento na produção de espécies reativas ao oxigênio (ERO). Essa produção ocorre durante o exercício aeróbio e anaeróbio e é importante para a adaptação das fibras musculares. Porém, durante o exercício exaustivo, a produção de ERO pode ser maior do que a capacidade de tamponamento dos antioxidantes dos músculos, provocando aumento do estresse oxidativo, da inflamação, dano muscular e do tempo de recuperação (GOMES et al., 2012). O aumento expressivo dos estados oxidativo e inflamatório causam disfunção contrátil, resultando em fraqueza, fadiga, dores e lesões musculares (POWERS; JACKSON, 2008; WAGNER et al., 2011).

Em jogadores de futebol de salão foi observado que após uma partida há aumento das concentrações de creatina kinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), interleucina 6 (IL-6), proteína C reativa (PCR), ativação dos neutrófilos e redução da eficiência da fagocitose dos neutrófilos (de MOURA et al., 2011). Outro estudo que corrobora com esses achados é o de Suzuki et al. (2000) que verificam alterações imunológicas em maratonistas. Após a competição, foi observado aumento das concentrações de IL-6, IL-8 e cortisol. O dano muscular, avaliado indiretamente por meio da elevação das concentrações de CK e mioglobina, também foi verificado. De acordo com os autores, estes resultados sugerem que a patogênese induzida pelo exercício exaustivo pode ser atribuída, em parte, às alterações sistêmicas encontradas.

Assim, vários autores sugerem que aumentar a ação antioxidante do organismo pode melhorar o desempenho, por aumento da resistência ao exercício físico, reduzindo o estado oxidativo e o dano muscular causado (MCCARTY; DINICOLANTONIO; O'KEEFE, 2015; TOLEDO et al., 2013; SPENCE et al., 2012). Contudo, estes efeitos precisam ser mais investigados em praticantes de exercício físico (PETERNELJ; COOMBES, 2011).

Recentemente, a curcumina passou a ser estudada no meio esportivo devido ao seu potencial antioxidante e anti-inflamatório. A curcumina, componente amarelo-alaranjado do açafrão, é um polifenol natural isolado do rizoma da planta *Curcuma Longa L.* Durante séculos, a curcumina tem sido utilizada como corante, especiaria ou com finalidades medicinais (JURENKA, 2009; ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011). Nos últimos anos, estudos *in vitro*, *in vivo* e clínicos sugerem que a curcumina possui propriedades anticancerígena, antiviral, antiartrítica, antiamilóide, antiaterosclerótica, antioxidante e anti-inflamatória (AHN et al., 2015; BUDUMA et al., 2016; SANTIAGO, et al., 2015).

A suplementação de curcumina em ratos reduziu a inflamação e marcadores de lesão muscular induzidos pelo exercício excêntrico. Em decorrência desses efeitos foi observado um melhor desempenho físico (DAVIS et al., 2007). Até o momento, nenhum estudo investigou os efeitos do uso crônico de cúrcuma sobre os marcadores de inflamação e dano muscular em corredores de provas de longa distância. A hipótese desse trabalho é que a suplementação de cúrcuma diminui a inflamação, melhorando o desempenho físico e reduzindo o dano e a dor muscular após uma corrida de 21 km.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PROCESSO OXIDATIVO, INFLAMATÓRIO E DANO MUSCULAR PROVOCADOS PELO EXERCÍCIO FÍSICO EXTENUANTE

O exercício físico realizado com intensidade e volume adequados, associado com tempo suficiente de recuperação, promove adaptações benéficas nos sistemas fisiológicos. De acordo com *American College of Sports Medicine (ACSM)*, adultos saudáveis devem realizar treinamento cardiorrespiratório de intensidade moderada igual ou superior a 30 minutos, 5 dias na semana, totalizando 150 minutos por semana no mínimo; ou de intensidade vigorosa igual ou superior a 20 minutos por dia, três vezes na semana, totalizando 75 minutos por semana; ou a combinação de exercícios moderados e intensos para atingir um gasto energético total de no mínimo 500 kcal por dia. Além disso, a realização de exercícios resistidos para cada um dos principais grupos musculares e de exercícios neuromotores envolvendo equilíbrio, agilidade e coordenação motora também são recomendados no mínimo duas vezes por semana (GARBER et al., 2011).

Em contrapartida, o exercício físico intenso, exaustivo, de longa duração e com tempo insuficiente de descanso, pode levar ao desequilíbrio fisiológico, tanto na produção excessiva de ERO quanto na recuperação muscular, promovendo graves lesões, pois o organismo não consegue reparar todo o dano muscular causado por este tipo exercício (BENETTI et al., 2009; CRUZAT et al., 2007; JACKSON et al., 2008; LIRA et al., 2012).

O exercício físico pode produzir radicais livres de duas formas. A primeira ocorre pelo esgotamento de elétrons nas mitocôndrias, ao nível do citocromo, produzindo radicais superóxidos. A outra ocorre durante as alterações do fluxo sanguíneo e do suprimento de oxigênio, devido à perfusão inadequada durante o exercício extenuante, seguido por uma reperfusão substancial na recuperação, ultrapassando a capacidade de tamponamento do músculo esquelético (MCADLE, KATCH, KATCH, 2010).

A elevada produção de ERO provoca danos nas membranas celulares das fibras musculares, os quais são acompanhados de processo inflamatório (LAZOLLI et al., 2000). A maior produção de ERO e de consumo do trifosfato de adenosina (ATP),

bem como a alteração da homeostase de cálcio, estão ligados à etiologia da necrose e lesão da fibra muscular (GLEESON et al., 2003). Os danos no músculo esquelético em decorrência do exercício físico extenuante variam desde uma lesão ultraestrutural das fibras musculares até a ruptura do músculo (VANCINNI et al., 2005; PALACIOS et al., 2015).

Estas lesões musculares podem ser caracterizadas por dores musculares de início tardio, rompimento de fibras musculares, extravasamento de proteínas para o plasma, resposta imune da fase aguda e a diminuição do desempenho físico. O mecanismo de reparo da musculatura pode ser dividido em três fases: degenerativa, regenerativa e remodelação do tecido danificado (SILVA; MACEDO, 2011; SMITH, 2004), constituídas por respostas complexas, nas quais as células inflamatórias irão promover tanto o dano quanto a regeneração (CRUZAT et al., 2007) (Figura 1).

A primeira fase, degenerativa, é iniciada após o estresse mecânico, que resulta em dor e inchaço, seguido pelo estresse metabólico. Esses fatores geram as lesões oxidativas por meio da ação combinada de ERO, enzimas antioxidantes, fatores de crescimento, hormônios e citocinas, que tentarão manter o equilíbrio entre as atividades pró e antioxidantes e pró e anti-inflamatórias (CRUZAT et al., 2007). A inflamação presente nessa fase é iniciada pela lesão do sarcolema, que favorece a liberação dos eicosanoides, tais como prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos e tromboxanos (SILVA, MACEDO, 2011).

Na segunda fase, regenerativa, os neutrófilos e, posteriormente, os monócitos e linfócitos são recrutados para o local de inflamação, onde existe a produção de ERO e enzimas proteolíticas para reparar e limpar o tecido danificado. Os neutrófilos fagocitam a fibra muscular lesada por meio da ativação da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase (NADPH) e da liberação de enzimas proteolíticas a partir dos seus grânulos intracelulares. Essa ação pode danificar as células normais próximas ao local atingido. Durante este processo, há síntese das citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF- α) e IL-1 β , que estimulam a síntese de IL-6. Em sequência, a IL-6 atua como mediador primário da reação de fase aguda, estimulando a produção hepática de inibidores de proteases e PCR (PALACIOS et al., 2015; SILVA; MACEDO, 2011; VANCINNI et al., 2005).

Na terceira fase, remodelação do tecido danificado, os macrófagos regeneram o tecido danificado, exercendo estímulo à miogênese até que ocorra o crescimento do tecido (LESCAUDRON et al., 1999). A miogênese ocorre por meio de células

satélites/ mioblastos ativados que se ploriferam no local do dano após 24 horas. Durante os próximos três dias, estes mioblastos diferenciam e se fundem para formar pequenas células multinucleadas denominados de miotubos e em seguida os miotubos se fundem e amadurecem para substituir as miofibras danificadas. Esse processo pode estar completo dentro de duas semanas (GROUNDS, 2014).

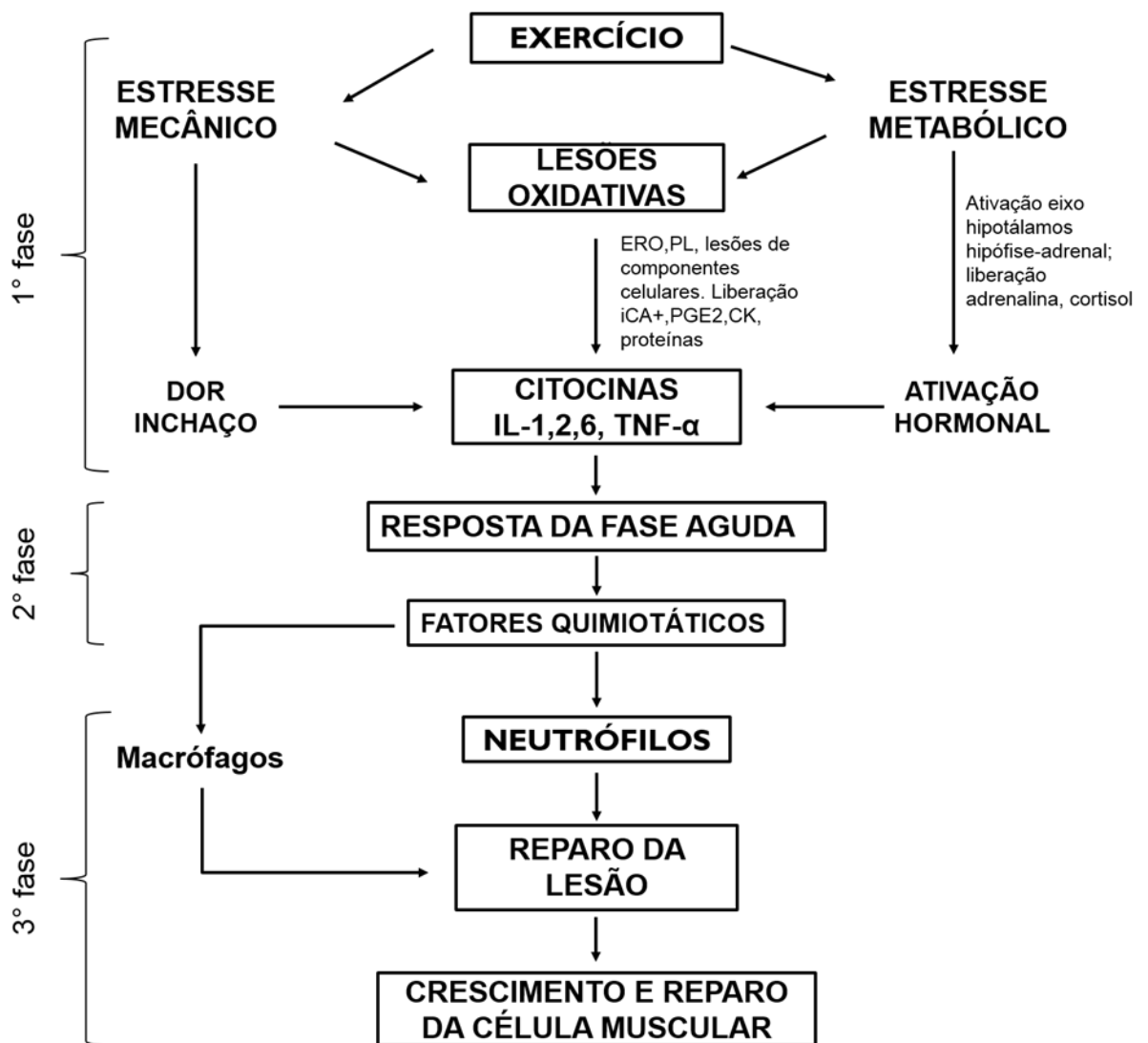


Figura 1. Mecanismo de lesão e reparo do dano muscular. Primeira fase: degenerativa, segunda fase: regenerativa, terceira fase: remodelação do tecido danificado. Peroxidação lipídica (PL); Cálcio intracelular (iCa^+); Prostaglandina (PGE_2); Creatina-quinase (CK); Fator de necrose tumoral alfa ($TNF-\alpha$); Interleucina-1 (IL-1); Interleucina-2 (IL-2); Interleucina-6 (IL-6); Ferro (Fe); leucotrieno (LTB_4) e Proteína (C5a). Adaptado de Pyne (1994).

O controle da resposta inflamatória acontece por meio das citocinas, que são responsáveis pela duração, coordenação, regulação da duração e magnitude do evento inflamatório (SILVA; MACEDO, 2011). As citocinas são divididas em pró-

inflamatórias IL-1 β , TNF- α , IL-6, e anti-inflamatórias IL-6, IL-10, IL-4, IL-5, IL-13 e IL-1ra (SILVA; MACEDO, 2011; PETERSEN; PETERSEN, 2005). As pró-inflamatórias são consideradas como “citocinas de alarme”, estimuladas diretamente pela lesão tecidual (SMITH, 2000; PETERSEN, PETERSEN, 2005; MOLDOVEANU; SHEPHARD; SHEK, 2001). Elas se comunicam por meio de intercélulas com órgãos e sistemas, permitindo que diferentes sistemas sejam informados sobre o trauma em um tecido específico. Sua produção ocorre principalmente pelas células do sistema imune, células endoteliais, tecido adiposo e, também, pela musculatura esquelética (SMITH, 2000).

As miocinas, citocinas produzidas pelo músculo durante o exercício físico, desempenham um papel importante na proteção contra o dano muscular e inflamação. Suas concentrações aumentam na prática de exercícios de moderada intensidade (GLEESON et al., 2011). A IL-6 é uma miocina que está sendo considerada como principal agente regulador da fase aguda no exercício físico (SCHOLER; CASTRO, 2014). Esta citocina é produzida em concentração mais elevada no tecido muscular estriado esquelético, pelas células endoteliais e leucócitos, via sinalização das citocinas pró-inflamatórias e das EROS, e sua secreção está relacionada com a duração e a intensidade do exercício praticado (SILVA; MACEDO, 2011), com um papel importante no suprimento de energia, ativando a lipólise (GLEESON et al., 2011). Outras ações da IL-6 é limitar a extensão da resposta inflamatória por aumentar a síntese de citocinas anti-inflamatórias como IL-10, IL-8 (PETERSEN; PEDERSEN, 2005) e do receptor antagonista de IL-1 (IL-1ra) (SMITH, 2000; SILVA; MACEDO, 2011), além de inibir a produção e secreção do TNF- α (PETERSEN; PEDERSEN, 2005).

A resposta de fase aguda restabelece proteínas depletadas ou danificadas e reverte os efeitos prejudiciais da resposta inflamatória inicial. Vista desse modo, a IL-6 possui função mais restaurativa do que pró-inflamatória. A IL-6 também estimula a glândula hipófise a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), resultando no aumento da liberação do hormônio cortisol (ROGERO; MENDES; TIRAPEGUI, 2005; SELKOW et al., 2015). As principais alterações bioquímicas que acontecem durante a fase aguda da inflamação são o aumento do catabolismo proteico, da lipogênese hepática, da lipólise no tecido adiposo, da gliconeogênese, das citocinas no plasma, da síntese hepática das proteínas de fase aguda, da síntese dos fatores quimiotáticos e redução das concentrações de zinco e ferro no plasma, podendo formar potentes

oxidantes (SILVA, MACEDO, 2011). As principais respostas fisiológicas da fase aguda são febre, aumento da secreção de ACTH, cortisol, glucagon, catecolaminas, e hormônio de crescimento, alterações na hematopoiese, desenvolvimento de quadro anêmico e leucocitose. As principais respostas comportamentais são sonolência e perda de apetite (CECILIANE; GIORDANO; SPAGNOLO, 2002).

Conforme comentado anteriormente, o processo inflamatório no pós-exercício praticado regularmente é considerado benéfico e necessário para o reparo e regeneração da musculatura danificada. Todavia, o excesso de treinamento e exercícios de intensidades elevadas e de longa duração podem prejudicar a reparação parcial ou total da musculatura (SILVA; MACEDO, 2011).

Exercícios de longa duração, como a corrida de meia maratona (21 km), aumentam o estresse oxidativo, inflamação e o dano muscular (CHILD et al., 1998; SIQUEIRA et al., 2009; WAGNER; REICHHOLD; NEUBAUER, 2011; LIPPI et al., 2011; SAUGY et al., 2013; SASAKI et al., 2014). Um estudo realizado com 15 homens saudáveis avaliou marcadores de dano muscular logo após uma prova de meia maratona. A prática da corrida produziu mudanças significativas na atividade de biomarcadores tradicionais de lesão hepática como gama-glutamil transferase (GGT), AST, LDH, CK, bilirrubina total e direta, que permaneceram com suas concentrações elevadas até 24 horas após a corrida de 21 km (LIPPI et al., 2011). Outro estudo realizado com 20 atletas do sexo masculino que participaram de uma prova de meia maratona observou aumento das concentrações das enzimas CK total, CK-MM (isoforma com maior proporção no músculo estriado), CK-MB (isoforma com maior proporção no músculo cardíaco) e LDH, bem como aumento das concentrações séricas de creatinina, ferro sérico, leucócitos e neutrófilos, observando assim danos significativos ao tecido muscular 15 min após a corrida (SIQUEIRA et al., 2009).

As concentrações plasmáticas aumentadas de proteína citosólicas refletem a lesão muscular. As proteínas frequentemente avaliadas são CK, LDH, AST e a mioglobina, as quais, normalmente, são incapazes de atravessar a membrana plasmática. A concentração plasmática do aminoácido 3-metil-histidina também aumenta com a lesão muscular. Essas proteínas presentes na circulação sanguínea refletem significativamente a alteração da estrutura e permeabilidade da membrana miofibrilar (CRUZAT et al., 2007; PROSKE; MORGAN, 2001).

O aumento expressivo dos estados oxidativo e inflamatório causam disfunção contrátil, resultando em fraqueza e dor muscular, fadiga e lesões musculares

(POWERS; JACKSON, 2008; WAGNER et al., 2011). A dor muscular de início tardio (DMT) está associada aos sintomas de encurtamento muscular, aumento da rigidez passiva, diminuição da força, dor localizada e perda da propriocepção. A DMT advém do processo inflamatório, aumento da tensão no aparelho contrátil, acúmulo de produtos metabólicos e dano estrutural aos tecidos. Estes sintomas geralmente desaparecem em três a quatro dias (PROSKE; MORGAN, 2001).

Após o exercício intenso ou de longa duração, a fibra muscular apresenta uma desorganização em sua estrutura, ruptura, alargamento ou prolongamento da linha Z. O sarcolema, os túbulos transversos e as miofibrilas também se encontram danificados e há aumento na densidade mitocondrial, do conteúdo de proteínas miofibrilares e do citoesqueleto (FOSCHINI; PRESTES; CHARRO, 2007).

Normalmente, o organismo consegue reparar esses danos, mas quando está associada a um intenso estresse oxidativo, além de ocorrer várias alterações nos tecidos e danos ao DNA, pode ocorrer também um processo chamado de rbdomiólise, lesão do músculo esquelético com liberação de constituintes celulares no plasma. Em outras palavras é o rápido desenvolvimento da lesão muscular ao nível das fibras e do tecido conjuntivo, juntamente com alterações nos componentes intracelulares, que ultrapassam os espaços intersticial e plasmático, e estão acompanhadas pela liberação de enzimas musculares, aumento da mioglobínúria e da mioglobínemia; podendo a partir daí observar um grau de desestruturação celular nas células lesadas com uma degradação de proteínas estruturais e de lipídeos (FERNANDES, UCHOA 2013; LAZOLLI et al 2000). Dessa forma, reduzir os efeitos negativos da inflamação muscular acentuada pode maximizar o treinamento e o desempenho, e também prevenir lesões (CRUZAT et al., 2007). Sendo assim vários compostos bioativos que possuem ação antioxidante e anti-inflamatória tem sido cada vez mais estudados no campo esportivo, na tentativa de prevenir lesões e ate mesmo melhorar o rendimento.

2.2 CURCUMINA

A curcumina, componente amarelo-alaranjado do açafrão derivado da planta cúrcuma (*Curcuma Longa L.*), é um polifenol natural de baixo peso molecular (CHIBA et al. 2011). A curcumina (1,7-bis (4-hidroxi-3 metoxifenol) -1,6 heptadiene-3,5-diona) foi isolada pela primeira vez por Vogel em 1815 e estruturalmente caracterizada por Lampe e Milobedeska em 1910 (Figura 2), sendo o principal componente extraído da cúrcuma (HATCHER et al., 2008). Derivada dos rizomas, a cúrcuma é um membro perene da família Zingiberácea da mesma família do gengibre (JURENKA, 2009; ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011) e em sua constituição possui três curcuminóides: a curcumina (diferuloimetano, 77%), desmetoxicucumina (17%) e bisdemetozicurcumina (3%), além de óleos voláteis (turmerona, atlantone e zingibereno), proteínas, açúcares e resinas (JURENKA, 2009; SETHI, 2015; SHARMA; GESCHER; STEWARD, 2005).

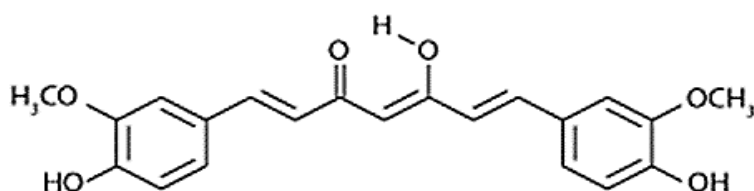


Figura 2. Estrutura da curcumina.

Desde a antiguidade, o rizoma da cúrcuma foi utilizado como tempero, conservante de alimentos e corante. Na medicina chinesa e na Índia, a cúrcuma foi utilizada para tratamento de várias doenças devido às suas propriedades anti-inflamatórias e antissépticas (HATCHER et al., 2008; VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009; ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011).

Nas últimas quatro décadas, a curcumina vem sendo extensivamente estudada devido à suas inúmeras atividades farmacológicas, incluindo antioxidante, antifúngica, anti-inflamatória, antimalárica, antitumoral, antiviral, cicatrizante, esquistossomicida, hipoglicemiante, leishmanicida, nematocida, neuroprotetora, anti-aimiloidogênica e imunomoduladora (SANTIAGO et al., 2015). Com mais de 100 alvos moleculares diferentes, torna-se difícil determinar sua função bioquímica. Todavia, existe um consenso de que os objetivos clínicos mais importantes da curcumina são a modulação dos fatores de transcrição e dos genes de sinalização celular envolvidos

na resposta inflamatória (DI PIERRO et al., 2013), exercendo ações pleiotrópicas inibitórias e/ou estimulatórias nas vias de sinalização celular (JURENKA, 2009).

A curcumina plasmática pode ser metabolizada tanto por meio de vias de redução quanto de conjugação em roedores e em humanos (SHEN; JI, 2012). Quando administrada via oral sofre conjugação, resultando em dois compostos, o glucuronido curcumina e sulfatos, e quando administrada por via intraperitoneal ou endovenosa sofre redução e resulta em hexahidrocurcumina, tetrahidrocurcumina e dihidrocurcumina (BEEVERS; HUANG, 2011; RAHMAN; BISWAS; KIRKHAM, 2006; SHEN; JI, 2012). Os metabólitos originados apresentam tempo de meia-vida muito curto e baixa permeabilidade celular (ALAPPAT; AWAD, 2010).

Em estudo clínico realizado em 25 pacientes com lesões pré-cancerosas demonstrou que doses orais de 4, 6 e 8 g de curcumina por dia durante três meses, produziram concentrações de curcumina no soro de $0,51 \pm 0,11$; $0,63 \pm 0,06$ e $1,77 \pm 1,87\mu\text{M}$, respectivamente, indicando baixa absorção da curcumina e baixa biodisponibilidade sistêmica. O pico sérico de curcumina ocorre entre uma e duas horas após a suplementação, declinando rapidamente após este período (DHILON et al., 2008). A maioria dos dados sobre a farmacocinética, metabólitos, e biodisponibilidade sistêmica da curcumina, em humanos, foram conduzidos principalmente em pacientes com câncer, porém são inconclusivos, necessitando de mais estudos para melhor compreensão (JURENKA, 2009). O uso de curcumina como suplemento já foi aprovado em diversos países, como África do Sul, Índia, Nepal, Estados Unidos, Coreia, Japão, China, Turquia e Tailândia. Várias formulações de curcumina já foram desenvolvidas como liofilizado, comprimido, cápsulas, encapsulada em lipossomas, emulsões e nanopartículas; todos na tentativa de aumentar sua biodisponibilidade e assim melhorar o seu rendimento como função farmacológica (CHIBATA et al., 2012; FUJITA et al., 2011).

2.3 CURCUMINA E EXERCÍCIO FÍSICO

Estratégias que possam melhorar a aptidão física e o rendimento em praticantes de exercício vêm sendo cada vez mais estudados (SOUZA et al., 2005). Da mesma forma, buscam-se soluções para redução do estresse oxidativo, da dor tardia e das respostas inflamatórias decorrentes do exercício físico muito intenso e/ou prolongado (BAAR, 2014; KELLET et al., 2015). A suplementação com antioxidantes vem sendo indicada para melhora do desempenho e aumento do rendimento durante o exercício, bem como para a diminuição da dor tardia e do tempo de recuperação muscular (SUREDA et al., 2014).

Recentemente, a curcumina passou a ser estudada no meio esportivo devido ao seu potencial antioxidante e anti-inflamatório. Esse pigmento está relacionado com vários alvos moleculares, dentre eles o fator nuclear kappa B (NF- κ B), que está envolvido na regulação da proteólise e inflamação do músculo, e sua inibição poderia resultar em efeito protetor ao músculo (SETHI et al., 2015).

A curcumina age inibindo a via do NF- κ B. Os estímulos extracelulares que ativam a cascata de formação do NF- κ B depende das ERO decorrentes de lesões, processos inflamatórios e estresse oxidativo (KATSORI et al., 2015). A curcumina é capaz de capturar os radicais das ERO e inibir a óxido nítrico sintase e a ligação de c-jun/ AP-1 no DNA, proteínas envolvidas na cascata infamatória com posterior a ativação do NF- κ B (GHORBANI; MIRMIRAN; PARVIN, 2014; TAKANASHI et al., 2013; SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

Outra via sub-regulada pela curcumina é a janus quinase/sinal transdutor e ativador da transcrição proteica (JAK/STAT), resultando na redução da produção de IL-1, 2, 6, 8 e 12, TNF- α e da proteína quimioatrativa de monócitos-1 (MCP-1). Além disso, esse pigmento também modula as respostas inflamatórias decorrentes da atividade da ciclo-oxigenase-2 (COX-2), diminuindo as enzimas lipoxigenase, xantina oxidase, e óxido nítrico sintase induzível (iNOS), resultando na inibição da fosforilação do transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 (STAT3) (GHORBANI; MIRMIRAN; PARVIN, 2014). As inibições de COX-2 e iNOS contribuem para a supressão do NF- κ B (GHORBANI; MIRMIRAN; PARVIN, 2014; SANTIAGO et al., 2015).

O tratamento de 15 pacientes com quadro agudo de inflamação com uma dose de 2g do produto comercial Meriva®, correspondendo a 400mg de curcumina, resultou em melhor resposta à dor do que quando comparada ao uso de 500 mg do anti-

inflamatório acetaminofeno, evidenciando seu potencial analgésico e anti-inflamatório (DI PIERRO et al., 2013). Estudo em animal mostrou que a curcumina pode aumentar a regeneração do músculo e melhorar os comportamentos associados com DMT em ratos (DAVIS et al., 2007).

A suplementação com 5g de cúrcuma dois dias antes, no dia e após a prática do exercício resistido (7 séries no *leg press* com execução unilateral de força excêntrica) em 19 homens saudáveis e ativos foi usada para avaliar DMT e a inflamação muscular. O estudo constatou que a curcumina diminuiu a DMT, mas não observou diferenças nos biomarcadores de inflamação, sugerindo que mais estudos sejam realizados para avaliar os efeitos da suplementação crônica de curcumina associada ao exercício físico exaustivo (NICOL et al., 2015). Estes resultados corroboram em parte com o estudo de DROBNIC et al. (2014), que suplementaram 2g de Meriva® dois dias antes, no dia e um dia após o estudo, e submeteram 20 homens saudáveis moderadamente ativos a um protocolo em esteira ergométrica em declive de 10% por 45 minutos. Os autores verificaram redução na DMT, bem como nas concentrações de IL-8.

Com relação ao estresse oxidativo pós-exercício, a ingestão de 90mg de cúrcuma, contendo 10% de curcumina, 2 horas antes e após exercício em esteira a 65% do VO_{2max} durante 60 minutos, não alterou a atividade antioxidante de homens ativos (TAKAHASHI et al., 2013). Vale ressaltar que neste estudo, o protocolo utilizado pelos autores não foi apropriado, visto que não promoveu aumento de estresse oxidativo no grupo controle. A suplementação de 500 mg de curcumina em 11 atletas amadores, três dias antes e no início do teste com 2 horas de ciclismo a 95% do limiar de lactato com 70 rotações por minutos, não alterou as concentrações de citocinas inflamatórias e o estresse oxidativo. Os autores sugeriram que novos estudos fossem realizados com uma amostra maior e com diferentes intensidades de exercício para se chegar a uma resposta mais conclusiva em relação aos efeitos da suplementação (SCIBERRAS et al., 2015).

Baseado nestes estudos observa-se a necessidade de pesquisar os benefícios da cúrcuma no exercício físico extenuante, com relação a sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória. Até o momento, nenhum estudo investigou os efeitos da suplementação crônica de cúrcuma sobre o desempenho físico, marcadores inflamatórios e de dano muscular em atletas após uma prova de meia maratona. A hipótese desse trabalho é que a suplementação de *Cúrcuma Longa L.* reduz a

inflamação e conseqüentemente os marcadores de lesão muscular e a DMT após a prova de meia maratona.

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Fase 1

Avaliar o efeito das diferentes dosagens de *Cúrcuma Longa L.* sobre as concentrações plasmática de curcumina e sua ação antioxidante em homens saudáveis.

Fase 2

Avaliar os efeitos da suplementação de *Cúrcuma Longa L.* sobre marcadores de inflamação, dano e dor muscular após uma meia maratona.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Padronizar a técnica de determinação das concentrações plasmáticas de curcumina por HPLC acoplada à fluorescência;
- Avaliar o efeito de diferentes dosagens de *Cúrcuma Longa L.* sobre as concentrações de curcumina e capacidade antioxidante de homens saudáveis;
- Verificar o efeito da suplementação de *Cúrcuma Longa L.* sobre as concentrações de IL-6, IL-10 e MCP-1;
- Avaliar o efeito da suplementação de *Cúrcuma Longa L.* sobre as concentrações de CK, LDH, AST, ALT e mioglobina;
- Avaliar o efeito da suplementação de *Cúrcuma Longa L.* na melhora do desempenho físico e na redução da dor muscular tardia.

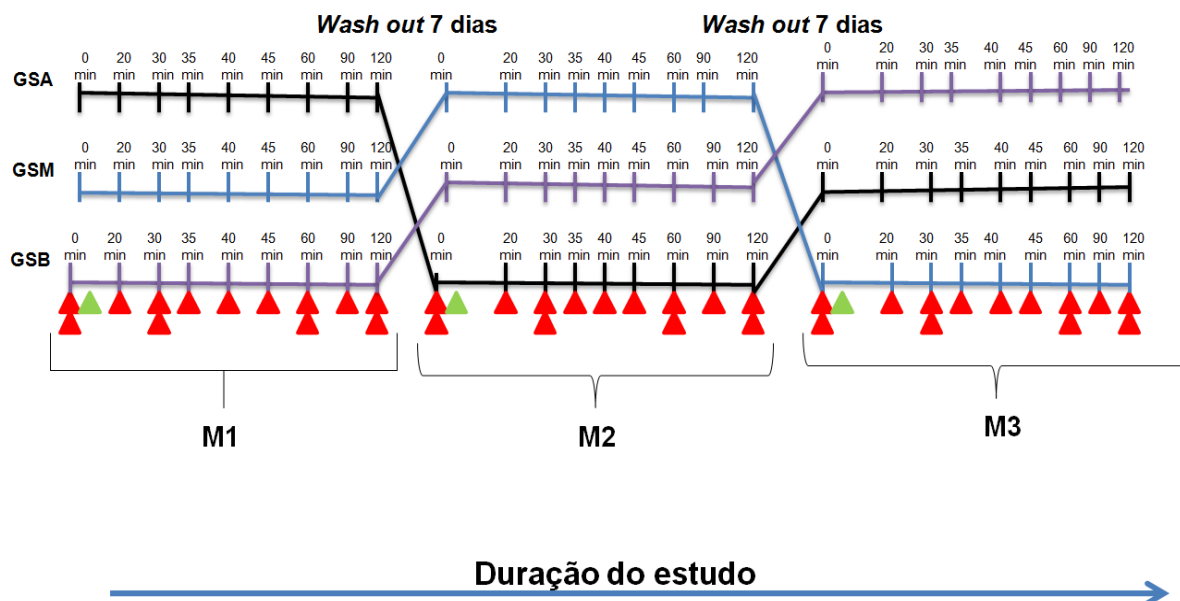
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 FASE 1

4.1.1 Delineamento e população

Tratou-se de um ensaio clínico, duplo cego, placebo controlado e cruzado (*crossover*), com duração de três semanas, sendo os participantes selecionados aleatoriamente. O estudo constou de três momentos de avaliação, cada um subdividido em nove etapas: antes da administração das cápsulas, 20, 30, 35, 40, 45, 60, 90 e 120 minutos após a suplementação de *Curcuma Longa L.* (Figura 2). Foi incorporado um período de sete dias entre cada momento (*wash out*) com o objetivo de que os possíveis efeitos residuais (*carryover*) de cada momento de suplementação fossem eliminados (Figura 3).

A população do estudo foi composta por nove homens saudáveis com idade de 20 a 40 anos, moradores de Goiânia, que não estavam consumindo medicações e/ou suplementos nutricionais. Foram recrutados alunos da pós-graduação da Universidade Federal de Goiás. O recrutamento foi realizado via telefone. Todos os indivíduos foram orientados sobre a pesquisa e aqueles que manifestaram concordância em participar do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A) em duas vias em conformidade com a resolução 466/12 sobre “Pesquisas envolvendo seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde” (Protocolo nº421.008).



- Grupo suplementado com alta dosagem (GSA): Dosagem de 6000mg de açafrão, os indivíduos receberão 12 cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L.*
- Grupo suplementado com média dosagem (GSM): Dosagem de 3000mg de açafrão, indivíduos receberão 6 cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L* e 6 capsulas de 500mg contendo maltodextrina.
- Grupo suplementado com baixa dosagem (GSB): Dosagem de 1500mg de açafrão, indivíduos receberão 3 cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L* e 9 capsulas de 500mg contendo maltodextrina.

- M1- Primeira semana
- M2- Segunda semana
- M3- Terceira semana

▲ Ingestão de cápsulas

▲ Coleta de sangue venoso e análise bioquímica (1 tubo de 2mL)

▲ Coleta de sangue venoso e análise bioquímica (2 tubos de 2mL)

Figura 3. Protocolo experimental fase 1.

4.1.2 Suplementação

Os indivíduos foram randomizados para receber três doses diferentes de *Curcuma Longa L.* em fases alternadas: suplementação de alta dosagem (6g), média dosagem (3g) e baixa dosagem (1,5g). O cegamento das dosagens suplementadas foi realizado por um pesquisador auxiliar, sendo revelado durante a fase de análise estatística.

Todos os participantes receberam as cápsulas da suplementação de forma que nem o participante e nem o pesquisador principal identificassem a dosagem suplementada. Cada cápsula tinha a capacidade de armazenar 500mg de

suplemento, sendo assim, na suplementação de baixa dosagem, os participantes receberam três cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L.* e nove cápsulas de 500mg contendo celulose; na média dosagem, seis cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L.* e seis cápsulas de 500mg contendo celulose; na alta dosagem, doze cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L.* A escolha da celulose como placebo foi realizada com base em estudos em que houve a suplementação com curcumina, com o objetivo de evitar qualquer interação entre o placebo e o princípio ativo estudado (SAKAMOTO et al., 2013).

Os indivíduos foram orientados a realizar jejum de 8h e foram instruídos a não ingerirem açafrão ou preparações com açafrão sete dias antes do estudo. A *Cúrcuma Longa L.* foi fornecida pela Cooperativa dos Produtores de Açafrão de Mara Rosa, Goiás. A cooperativa foi criada em 2003, com a finalidade de organizar e propiciar o caráter empresarial da comunidade produtora de açafrão do município de Mara Rosa, predominantemente integrantes do sistema de agricultura familiar. A quantidade de curcumina no açafrão (5%) da região de Mara Rosa foi determinada previamente por MORAIS et al. (2008).

4.1.3 Padronização de método bioanalítico em hplc-fld para análise de curcumina no plasma humano

Os materiais utilizados nas análises cromatográficas e no preparo das amostras foram acetonitrila grau HLPC (J.T. Baker, Alemanha), ácido acético (VETEC, Rio de Janeiro, Brasil), água ultrapura (Elga Purelab Option Q), padrão de curcumina (VETEC, Rio de Janeiro, Brasil), nitrogênio comprimido (White Martins, São Paulo, Brasil) e 17-beta estradiol. O plasma foi doado pelo Instituto Goiano de Hematologia e pelo Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás.

Soluções padrão de curcumina e estradiol

Soluções estoque de curcumina e estradiol foram preparadas em acetonitrila (439 µg/mL) e clorofórmio (1150 µg/mL), respectivamente. Posteriormente, solução intermediária de 17-beta estradiol foi preparada na concentração de 60 µg/mL em clorofórmio, adicionado no momento da extração como padrão interno. As soluções intermediárias de curcumina preparadas para fortificação da curva de calibração em plasma foram 50; 37,5; 28,1; 21,1; 15,82; 11,86; 8,89; 6,67; 5,0 e 4,25 µg/mL. As

curvas de calibração foram obtidas por meio da representação gráfica da relação de curcumina e da área do padrão interno (Figura 4). Para fortificação dos controles de qualidade preparou-se 4,25 µg/mL (limite baixo de quantificação), 6,67 µg/mL (controle baixo), 19,65 µg/mL (controle médio) e 37,50 µg/mL (controle alto), que resultou nas concentrações de 85, 133, 393 e 750 ng/mL, respectivamente. As soluções de controle de qualidade são amostras de matriz adicionada do analito (curcumina) em concentração específica, usada para validar e monitorar o desempenho de um método bioanalítico.

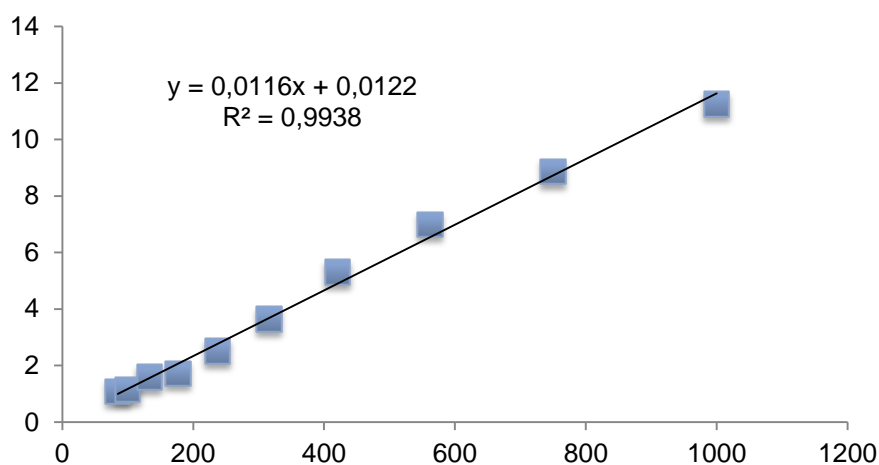


Figura 4. Curva de calibração.

Condições cromatográficas

O método foi validado em HPLC equipado de sistema de bombas quaternário, degaseficador, injetor automático e detector FLD, modelo Infinity 1260, Agilent Technologies®. A coluna utilizada nas análises foi C18 (Luna 150 ×4 mm; 3 µm) acoplada a pré-coluna compatível. A fase móvel empregada foi acetonitrila e água acidificada (pH 3,20) na forma de gradiente, no tempo de 0 a 8 minutos foi mantido a proporção de 45:55 acetonitrila e água acidificada, respectivamente; no tempo de 8,01 a 14 minutos houve elevação de acetonitrila até 73:27; entre 14,1 e 20 minutos a proporção da mistura volta a condição inicial.

O comprimento de onda de excitação e emissão da curcumina determinado no próprio detector de fluorescência foi 429 nm e 529 nm, enquanto que para o 17-beta estradiol foi 285 nm e 531 nm, respectivamente. Devido a grande diferença nos comprimentos de onda de excitação das duas substâncias, o mesmo foi alterado ao

longo dos vinte minutos de corrida, no tempo de 0 até 10 minutos a excitação permaneceu em 429 nm sendo alterada de 10,1 a 20 minutos para 285 nm. O comprimento de onda de emissão foi mantido em 529 nm devido à semelhança entre os dois analitos. O fator do tubo fotomultiplicador, que determina a sensibilidade do método, ajustado mediante vários testes, foi fixado em 14 durante toda validação.

Extração da curcumina em plasma

O método de extração utilizou clorofórmio como solvente extrator. A primeira etapa consistiu na adição do solvente orgânico (1800 µL) em 2000 µL de plasma na presença de padrão interno (6 µg/mL), agitação em vortex (5 min) e centrifugação (10 min a 5500 rpm). O solvente submerso foi retirado (1000 µL) e transferido para outro tubo de borosilicato. Após a extração, as amostras foram secadas até evaporação completa em nitrogênio comprimido. As amostras extraídas e secadas foram reconstituídas com 500 µL acetonitrila.

4.1.4 Quantificação das concentrações plasmáticas de curcumina após suplementação com diferentes dosagens de *Cúrcuma Longa L.*

Amostras de sangue foram coletadas via cateter venoso em tubos heparinizados nas nove etapas de cada momento do estudo. O sangue foi imediatamente centrifugado a 1.750 rpm durante 10 minutos a 4°C em centrífuga refrigerada (Beckman, Fullerton, CA, EUA) para separação do plasma. Posteriormente, as amostras foram adicionadas em tubos de ensaio de borosilicato envoltos por papel alumínio para proteção contra a luminosidade, congeladas e armazenadas a -80°C até a análise.

Na análise das amostras, para cada alíquota de 2 mL de plasma foi adicionado 200 µL de padrão interno e 1800 µL de clorofórmio. Posteriormente, as amostras foram homogenizadas durante 10 seg em vortex, e em seguida agitadas durante 5 min na intensidade 4. Após a agitação, os tubos foram levados a centrífuga, empregando a rotação de 5500 rpm durante 10 min. Com a separação de fases, retirou-se 1000 µL da fase orgânica e posteriormente transferiu-se a alíquota para outro tubo de borosilicato. Após a extração, as amostras foram levadas ao concentrador de amostras até evaporação completa em nitrogênio comprimido, por um período de 10 min, sendo então secadas. As amostras secas foram reconstituídas com 500 µL acetonitrila, colocadas em *vials* e injetadas no cromatógrafo (HPLC),

juntamente com duas curvas de calibração e três grupos de controles de qualidade (alto, médio e baixa concentração). A quantificação das concentrações de curcumina plasmática das amostras foi realizada em HPLC de acordo com o método bioanalítico validado, seguindo os critérios estabelecidos.

4.1.5 Avaliação da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi avaliada nos momentos 0, 30, 60 e 120 min pelo método descrito por BoboGarcia et al. (2015) com modificações. O método baseia-se na transferência de elétrons onde o DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), que possui cor púrpura, é reduzido, por ação de um antioxidante, formando diphenyl-picrylhidrazyl, de coloração amarela, com conseqüente redução da absorção, podendo ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. Inicialmente, foi preparada uma solução de metanol 80% (32 mL de metanol + 8 mL de água milli-Q). Posteriormente, pesou-se 0,002 g de DPPH que foi diluído em um balão volumétrico de 25 mL em metanol 80% (200 micromols/L). Após a diluição, a solução de DPPH foi colocada por 20 minutos no ultrassom para sua total solubilização. Em seguida, em uma microplaca, foram pipetados 80 µL de metanol, representando a amostra controle e 80 µL do plasma diluído e desproteínizado em metanol, em triplicata. As mesmas amostras foram repetidas na fileira seguinte da microplaca, para realização do branco da amostra e do controle. Posteriormente, foram pipetados 160 µL da solução de DPPH na primeira fileira, e 160 µL de metanol 80% na segunda fileira, sendo estes intercalados sucessivamente. As amostras foram, então, incubadas por 50 min, e as absorbâncias foram medidas à 517 nm. O percentual de redução do DPPH foi determinado utilizando a seguinte fórmula: % DPPH = $[1 - (A \text{ amostra} - A \text{ branco} \div A \text{ amostra} - A \text{ branco})] \times 100$.

4.2 FASE 2

4.2.1 Delineamento

Foi realizado um ensaio clínico duplo-cego, placebo controlado com duração de 34 dias, sendo os participantes selecionados aleatoriamente em grupos de corrida. O estudo contou com seis momentos de avaliação: inicial (M0), 23 dias antes da meia maratona (M1), antes da meia maratona (Pré), após a meia maratona (após), duas horas após a meia maratona (2h após), 24 horas após a meia maratona (24 após) e 48 horas após a meia maratona (48h após).

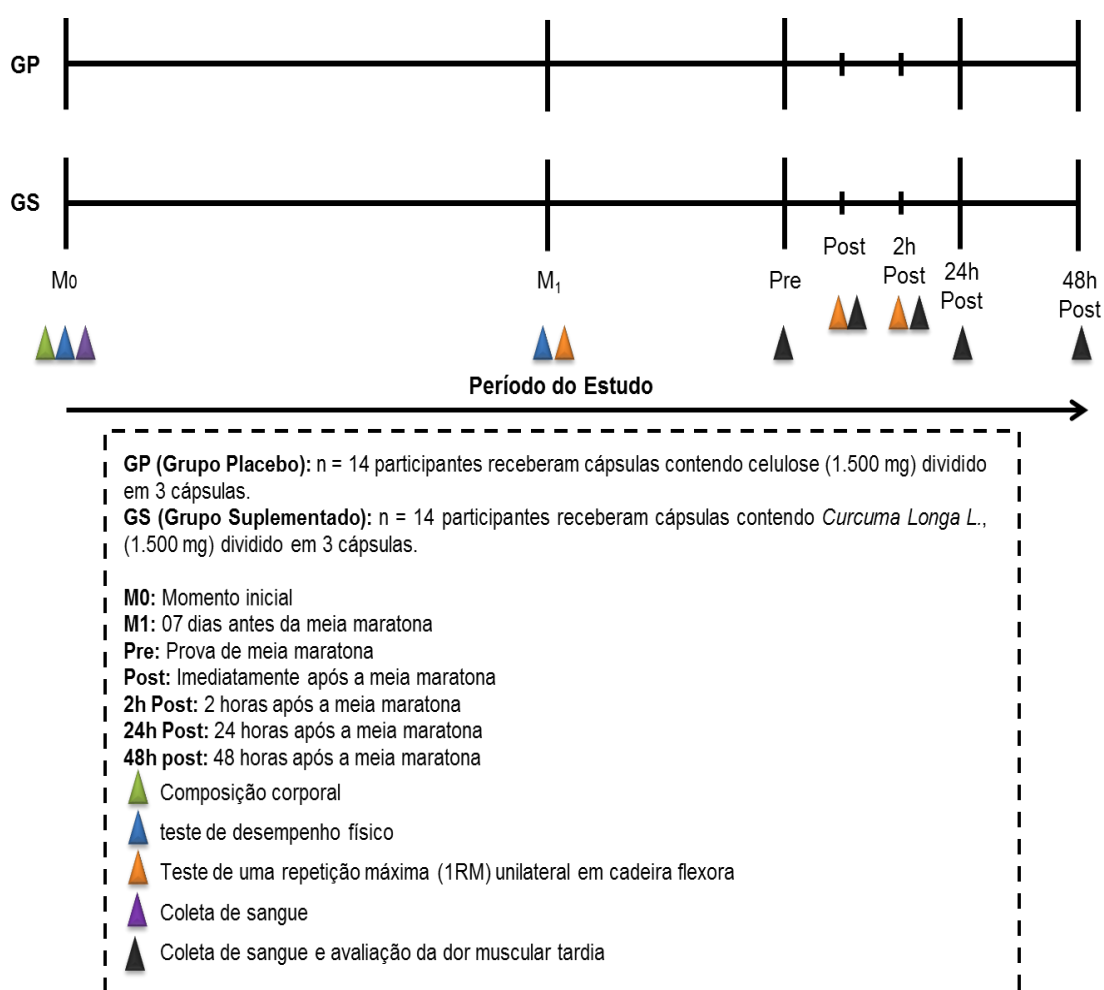


Figura 5. Protocolo experimental fase 2.

4.2.2 local de estudo e procedimentos éticos

As análises do estudo foram realizadas no Laboratório de Investigação em Nutrição Clínica e Esportiva (FANUT/UFG) e no Laboratório de Biofarmácia & Farmacocinética (FF/UFG). Todos os indivíduos foram orientados sobre a pesquisa e aqueles que manifestaram concordância em participar do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (APENDICE B) em duas vias em conformidade com a resolução 466/12 sobre “Pesquisas envolvendo seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde”. O projeto foi aprovado Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Goiás (Protocolo nº421.008).

4.2.3 Critérios de inclusão e exclusão

Foram estabelecidos como critérios de inclusão para a participação na pesquisa: homens adultos, com idade de 25 a 50 anos, corredores de provas de meia maratona e que fossem realizar a corrida Meia Maratona de Goiânia.

Os critérios de exclusão adotados para a participação nesta pesquisa foram:

- Participar de um programa de restrição alimentar;
- Com diagnóstico de doenças imunes ou em uso de medicamentos imunossupressores;
- Com diagnóstico de enfermidades hepáticas, ou renais, pneumopatia e/ou cardiopatias;
- Etilista crônico e fumante;
- Em uso de suplementos nutricionais;
- Em uso de antibióticos e/ou anti-inflamatórios;
- Presença de lesões osteomusculares;
- Em processo inflamatório ou infeccioso.

4.2.4 População e amostragem

A população do estudo foi composta por 28 corredores. O tamanho da amostra foi estimado *a priori* com base no teste F para medidas repetidas com interação *within-between* usando o software G*Power versão 3.1.7 (FAUL et al., 2007). Assumindo uma redução de 5,18% nos níveis de CK após exercício no grupo suplementado com N-acetilcisteína com o tamanho do efeito (“*effect size*”) de -0,42, como reportado por

Para cada participante foi denominado um código numérico determinado por um pesquisador auxiliar, da qual foi revelado durante a fase de análise estatística. Os potes com as cápsulas foram separadas em códigos 1 e 2 no próprio laboratório que procedeu a encapsulação de forma que nem o pesquisador e nem os voluntários sabiam o que estavam tomando. O revestimento das cápsulas foi de coloração escura e de clorofila para que o suplemento não oxidasse e os atletas não soubessem o que estavam ingerindo e não desenvolvessem algum tipo de intolerância.

Em M0, os participantes receberam a quantidade de cápsulas suficiente para 29 dias, e receberam mais 3 cápsulas antes da prova de meia maratona. Foram orientados a ingerirem duas cápsulas durante do almoço e uma cápsula durante o jantar por dia com auxílio de água ou suco. Os participantes foram orientados a não modificar seus treinos físicos durante todo mês e a planilha de treinos foi acompanhada pelo pesquisador. O volume de treino durante os 27 dias foram iguais entre os grupos (GS: 102,21 ± 22,98km GP: 106 ± 20,33km). A adesão ao suplemento foi avaliada semanalmente por ligações telefônicas.

4.2.6 Avaliação da ingestão alimentar

Em entrevista, os indivíduos foram submetidos à anamnese nutricional por meio de recordatório de 24 horas, com a finalidade de calcular a ingestão energética de macro e micronutrientes no início da suplementação. Um registro alimentar de três dias (dois dias da semana e um dia do final de semana) também solicitado para acompanhamento da ingestão alimentar (FISBERG et al., 2005).

Os dados dietéticos obtidos em medidas caseiras foram convertidos para grama e mililitro a fim de possibilitar a análise química do consumo alimentar. Posteriormente, as informações serão processadas por meio do programa de análise nutricional Nutri quanti (NUTRIQUANTI, SP, Brazil). Após análise do consumo alimentar do momento inicial, os indivíduos receberam orientações alimentares para não haver diferenças entre o consumo de alimentos fontes em antioxidantes pelos atletas.

4.2.7 Protocolo de indução de estresse e dano muscular - prova meia maratona

Estudos têm mostrado que provas de meia maratona (21 km) causam aumento do estresse oxidativo (WAGNER; REICHHOLD; NEUBAUER, 2011, CHILD et al., 1998) e inflamação (SAUGY et al., 2013, SASAKI et al., 2014), bem como danos musculares (LIPPI et al. 2008, WAGNER et al., 2011, SAUGY et al., 2011). A prova escolhida foi a meia maratona de Goiânia que ocorreu no dia 25 de outubro de 2015, com largada às 7 horas da manhã, temperatura média de 29°C e vento de 16 km/h. A prova contou com inclinação média de 2,4%, inclinação e declive máximos de 12,9% e 12,8%, respectivamente. O mapa da prova pode ser visualizado na figura 7.



Figura 7. Mapa da prova de meia maratona.

4.2.8 Avaliação antropométrica e da composição corporal

As avaliações antropométrica e da composição corporal foram realizadas no início do estudo. As medidas de peso corporal e estatura foram tomadas de acordo com os procedimentos descritos por Heyward e Stolarczyk (2000). Para avaliação do peso corporal e estatura foi utilizada balança antropométrica digital (Filizola®), com precisão de 0,1 kg para peso e 0,1 cm para estatura, para o posterior cálculo do IMC. Os valores de referência utilizados para classificação foram os propostos pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1997).

A circunferência da cintura foi mensurada com fita milimétrica inextensível e inelástica, com precisão de 0,5 cm. A medida foi realizada no ponto médio entre o último arco intercostal e a crista ilíaca (HEYWARD; STOLARCZYK, 2000). Os valores de massa livre de gordura (MLG), o percentual de gordura corpórea total (%G), gordura ginóide e andróide foram avaliados no Laboratório de Investigação em Nutrição Clínica e Esportiva (Labince) da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás (UFG), utilizando o método de absorciometria radiológica de feixe duplo (DXA) em equipamento modelo DPX NT GE©. A técnica baseia-se na emissão, pelo corpo do paciente, de um feixe de radiação gerado por uma fonte de raios-X com dois níveis de energia. Este feixe atravessa o indivíduo no sentido pósterio-anterior e é captado por um detector. O programa calcula a densidade de cada amostra a partir da radiação que alcança o detector em cada pico de energia. O tecido mole (gordura, água, músculos, órgãos viscerais) atenua a energia de forma diferente do tecido ósseo, permitindo a construção de uma imagem da área de interesse. A dose de radiação que o operador recebe, mantendo-se a um metro da mesa quando o aparelho estiver em funcionamento, está nos mesmos níveis da radiação ambiental. O paciente recebe uma dose de 6,7 a 31uSV no exame de coluna lombar ou fêmur e uma dose ainda menor no exame de corpo total. No dia da análise, as participantes não podiam ter recebido contraste ou realizado procedimento radioativo. Para a avaliação, todos deveriam utilizar roupas leves e isentas de qualquer acessório ou objeto de metal. O posicionamento no equipamento foi feito de modo que a linha sagital demarcada nessa área passe sob o centro do crânio, da coluna vertebral, da pélvis e das pernas (ISBD, 2007).

4.2. 9 Teste de 1 Repetição Máxima

O teste de uma repetição máxima (1RM) foi realizado em máquina de flexão de joelhos, marca total health®, unilateral com perna dominante. Em M1 foi realizado aquecimento em bicicleta ergométrica (60-70 rpm). A carga estabelecida foi por meio de tentativas, aumentada gradativamente até chegar a 1RM. Entre cada tentativa teve um intervalo de 3 minutos para o descanso (Costa et al., 2015).

4.2.10 Teste de Léger

O teste de Leger (LÉGER; BOUCHER, 1980) foi aplicado para avaliar melhora no desempenho físico dos participantes. Inicialmente, os participantes foram familiarizados com o protocolo. Este teste é fundamentado em realizar percursos de 20 metros, em regime de vai e vem, a uma velocidade imposta por sinais sonoros provenientes de uma gravação do protocolo do teste. O teste iniciava a uma velocidade de 8,5 km/h e foi constituído por intervalos de um minuto, com o aumento da velocidade e conseqüentemente o aumento do número de percurso a cada minuto. Os participantes se colocaram na linha de partida e iniciaram o teste no primeiro sinal sonoro. Os atletas deveriam chegar ao local marcado, ultrapassando a linha, antes de soar o próximo sinal sonoro. Em cada intervalo, o tempo entre os sinais sonoros ia diminuindo, o que significou um aumento da velocidade de execução dos participantes. No primeiro estágio, a velocidade foi de 8,5 km/h, que correspondeu a uma caminhada rápida, sendo acrescida de 0,5 km/h a cada um dos estágios seguintes. Cada estágio teve a duração de aproximadamente 1 minuto. Em cada estágio foram realizadas de 7 a 15 idas e vindas de 20 metros (Duarte; Duarte, 2001). Os deslocamentos foram conduzidos até a exaustão do atleta, caracterizados pelo não acompanhamento dos sinais sonoros nas respectivas marcações. O principal atributo de mensuração foi a intermitência de ações, caracterizadas com aceleração entre os estímulos. O teste foi executado durante o período noturno, entre 19h00 e 21h00. Os participantes foram distribuídos de forma aleatória para a realização do teste e cada atleta foi encorajado verbalmente a realizar esforço máximo. Foi avaliado o desempenho de acordo com o número de voltas realizadas (BERTHOIN, et al., 1994). A predição do $VO_{2\text{máx}}$ foi dada pela equação ($VO_{2\text{MAX}} = - 24,4 + 6,0 \times \text{estágio finalizado}$) (Duarte; Duarte, 2001).

4.2.11 Questionário de dor muscular

O procedimento foi realizado no músculo vasto lateral e no bíceps femoral. O corredor ficou deitado em uma maca, onde foi realizado por um único avaliador formado em fisioterapia. O alongamento máximo do bíceps femoral deu-se por 3 segundos. Em seguida, foi realizada a palpação do músculo aplicando a pressão no ponto médio entre a origem e a inserção do músculo por 3 segundos com os dedos indicador médio e anelar. No final de cada procedimento foi entregue uma escala (linha de 0 [sem dor] a 10 cm [dor máxima]). O corredor escolhia um ponto na escala e marcava um X, de acordo com o nível de dor que sentiu a cada procedimento (Nosaka et al., 2002; Nosaka et al., 2002). Para padronizar a pressão aplicada, todos os dias foram feito com um único avaliador.

4.2.12 Avaliações laboratoriais

Após a coleta, os tubos de sangue contendo EDTA, para a separação do plasma e eritrócitos, e sem EDTA, para separação do soro, foram imediatamente centrifugados por 10 min a 3500 rpm e 4°C. As concentrações de CK, LDH, AST e ALT foram determinadas pela metodologia cinética colorimétrica no equipamento Sella 2 Merck Millipore®. Os kits utilizados foram da Labtest Diagnóstica SA, com sensibilidade de 7,449 U/L; 0,054 mg/dL; 1,913 U/L; 1,751 U/L, respectivamente.

As concentrações, IL-6, IL-10, MCP-1 foram quantificadas no plasma pela metodologia ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), com a utilização de uma leitora de microplacas da marca SpectraMax plus 384 Absorbance Microplate Reader (San Diego, California, USA) com um filtro de 450 nm, para leitura das absorbâncias. Para as análises das concentrações circulantes de IL-6 e IL-10 utilizou-se de kits reagentes da marca Ebioscience® com sensibilidade de 200pg/ml e 300pg/ml, respectivamente, e MCP-1 utilizou-se de kits reagentes da marca R&D System® com sensibilidade de 1000pg/ml. As concentrações de mioglobina também foram analisadas pelo método ELISA. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

4.2.13 Análise estatística

Os resultados das variáveis foram expressos sob a forma de média e DP. Para análise do experimento da fase 1, os valores foram inicialmente avaliados quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, a comparação entre grupos foi realizada por meio do teste de Kruskal-Wallis e a comparação entre os momentos pelo teste de Friedman.

Na fase 2, os valores também foram avaliados quanto a normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para avaliação pareada entre os momentos foi realizada ANOVA one-way, caso fosse constatada diferença estatística, o teste de Friedman foi realizado para verificar os momentos diferentes. As diferenças entre os grupos foram avaliadas a partir do teste T de *Student* ou *Mann Whitney*. O nível de significância adotado foi de 5%. Todas as análises foram realizadas utilizando o software Stata versão 12.0.

REFERÊNCIAS

AHN, J.K .; KIM, S .; HWANG, J.; KIM, J, LEE, Y.S; KOH, E.M;. KIM; K.H; CHA, H.S. Metabolomic Elucidation of the Effects of Curcumin on Fibroblast-Like Synoviocytes in Rheumatoid Arthritis. **Plos One**, São Francisco, n. 12, v. 10, 2015.

ARENT, S.M.; PELLEGRINO, J.K.; WILLIAMS, et al. Nutritional supplementation, performance, and oxidative stress in college soccer players. **Journal of Strength Conditioning Research**, Lincoln, v. 24, n.4, p.1117-1124, 2010.

ANAND, P.; KUNNUMAKKARA, A.B.; NEWMAN, R. A.; AGGARWAL, B. B. Bioavailability of curcumin: problems and promises. **Molecular Pharmaceutics**, Washington, v.4, n.6, p.807- 818

ASAKI, H.; SUNAGAWA, Y.; TAKAHASHI, K.; IMAIZUMI, A.; FUKUDA, H.; HASHIMOTO, T.; WADA, H.; KATANASAKA, Y.; KAKEYA, H.; FUJITA, H. Innovative preparation of curcumin for improved oral bioavailability. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Japan, v. 34, n.5, p. 550-665, 2011.

ALBRIGHT A.; FRANZ, M.; HORNSBY, G.; KRISKA, A.; MARRERO, D.; ULLRICH I.; Exercise and type 2 diabetes. **Medicina Science Sports Exercise**, Madison, v. 32, n.3 p. 45-60, 2000.

ALLAPPAT, L.; AWAD, A. B. Curcumina e obesidade: evidências e mecanismos. *Nutr Rev*, v. 68, n. 12, p. 729-38, 2010. BABATUNJI, E.O.; ABIOLA, F.A; ABIDEMI, P.K.; Reactive Oxygen Species, Apoptosis, Antimicrobial Peptides and Human Inflammatory Diseases. **Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 8, n. 2, p. 151-75, 2015.

BARRY, J.et al. Determining the Effects of Lipophilic Drugs on Membrane Structure by Solid-State NMR Spectroscopy: The Case of the Antioxidant Curcumin. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 131, n.12, p. 4490–4498, Apr. 2009.

BENETTI, M.; GHISI, M.L.G; ARAUJO, C.M.; PINHO, A.R. Doença Arterial Coronariana, Exercício Físico e Estresse Oxidativo. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 94, n.4, p.549-555, 2010.

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

BUDUMA, K.;_CHINDE, S.; DOMMATI A.K.; SHARMA; SHUKLA, A.;_SRINIVAS, K.V.;_ARIGARI, N.K; KHAN, F.; TIWARI, A.K.; GROVER, P.; JONNALA, K.K. Synthesis And Evaluation Of Anticancer And Antiobesity Activity Of 1-Ethoxy Carbonyl-3,5-Bis (3'-Indolyl Methylene) -4- Piperidone Analogs. **Bioorganic e medicinal chemistry letters**, n16, v.30, p.73-77, 2016.

CECILIANE F, GIORDANO A, SPAGNOLO, V.; The systemic reaction during inflammation: the acute-phase proteins. **Protein Peptide Letters**, v.9 n.3, 2002

CEQUEIRA, M.F.; AUGUSTO, O.; MEDEIROS, M.H.; Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química nova**, São Paulo, v. 30, n.2, p. 441-449, 2007

CHENG, A.L.; HSU, C.H.; LIN, J.K.; HSU, M.M.; HO, Y.F.; SHEN, T.S.; KO, J.Y.; LIN, J.T.; LIN, BR.; MING-SHIANG, W.; YU, H.S.; JEE, S.H.; CHEN, G.S.; CHEN, T.M.; CHEN, C.A.; LAI, M.K.; PU, Y.S.; PAN, M.H.; WANG, Y.J.; TSAI, C.C.; HSIEH, C.Y. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. **Anticancer Research**, Athens, v. 21, n. 4B, p. 2895-2900, 2001

CHIBA, T.; ISHIGURO, H.; MATSUMOTO, S.; TSUJIKO, K.; TSUJIKO, K.; HASHIGUCHI, M.; SASAKI, H.; OTSUKA, Y.; IMAIZUMI, A.; KANAI, M. Escalating dose and pharmacokinetic study of nanoparticles curcumin, a potential anticancer agent with improved bioavailability, in healthy human volunteers. **Cancer Chemother Pharmacol**, Berlin, v.69 n. p. 65-70, 2012

CHILD, R.B.; WILKINSON, D.M.; FALLOWFIELD, J.L.; DONNELLY, A.E. Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. Nova York, v.30, n.11, p.603-607, 1998.

CORSON T.W.; CREWS C. M. Molecular understanding and modern application of traditional medicines: triumphs and trials. **Cell**, Cambridge, v. 130, n.5, p. 769-774, Sep. 2007.

DAVIS, J.M.; MURPHY, E.A.; CARMICHAEL, M.D. et al. Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage. **American Journal Physiology endocrinology and metabolism**. Bethesda, v.292, n.6, p. 168-173, 2007.

DI PIERRO, F.; RAPACIOLI, G.; ADRIANA, M.E.; APPENDINO, G.; FRANCESCHI, F., TOGNI, S. Comparative evaluation of the pain-relieving properties of a lecithinized formulation of curcumin (Meriva®), nimesulide, and acetaminophen. **Journal of Pain Research**, Texas, v. 6, n. 3 p. 201-105, 2013.

DHILLON, N.; AGGARWAL, B. B.; NEWMAN, R. A.; WOLFF, R. A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; ABBRUZZESE, J. L.; CHAAN, S. N.; BADMAEV V.; URZROCK, R. Phase II Trial of Curcumin in Patients with Advanced Pancreatic Cancer. **Cancer Therapy: Clinical**, Texas, v. 14, n. 14, 2008.

DROBNIC, F. RIERA, J.; APPENDINO, G.; TOQNI S.; FRANCESCHI, F.; VALLE, X.; PONS, A.; TUR J.; Reduction of delayed onset muscle soreness by a novel curcumin delivery system (Meriva®): a randomised, placebo-controlled trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**. Woodland Park, v. 11, n. p. 11-31, 2014.

FOSCHINI D.; PRESTES J.; CHARRO, A.M. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio muscular. **Revista Brasileira Cineantropometria Desempenho Humano**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 101-106

GARCÍA-CONESA M.T. Dietary Polyphenols against Metabolic Disorders: How Far Have We Progressed in the Understanding of the Molecular Mechanisms of Action of These Compounds? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v.2015, sup., 2015.

GARBER, C.E.; BLISSMER, B.; DESCHENES, M.R.; FRANKLIN, B.A.; LAMONTE, M.J.; LEE, I.M.; NIEMAN D.C.; Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **American College of Sports Medicine. Medicine Science in Sports and Exercise**, Indianapolis, N.7 V. 43 p. 1334-1359, 2011.

GARCEA, G.; BERRY, D.P.; JONES, D.J.; SINGH, R.; DENNISON, A.R.; FARMER, P.B.; SHARMA, R.A.; STEWARD, W.P.; GESCHER, A.J. Consumption of the putative chemopreventive agent curcumin by cancer patients: assessment of curcumin levels in the colorectum and their pharmacodynamic consequences. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v.14, n.1, p. 120 - 125, 2005.

GHORBANI, Z.; HEKMATDOOST, A.; MIRMIRAN, P.; Anti-Hyperglycemic and Insulin Sensitizer Effects of Turmeric and Its Principle Constituent Curcumin. **International Journal of Endocrinology and Metabolism**, Irã, v. 12, n.4, p. 1- 9, 2014.

GOMES, E.C.; SILVA, A.N.; DE OLIVEIRA, M.R. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. **Oxidants Medicine Cellular Longevity**, Loughborough, v. 2012 p.1-12, 2012.

GOMES, R.; OTTONE, O.V.; OLIVEIRA, P.N.; VIANA, D.J.S.; ARAUJO, L.; GRIPP, F.J.; VIEIRA, R. Leukocytosis, muscle damage and increased lymphocyte proliferative response after an adventure sprint race. **Brazilian of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto v. 43, n. 6, p. 492-498, 2014

GLEESON, N.; ESTON, R.; MARQINSON, V.; MCHUGH, M. Effects of prior concentric training on eccentric exercise induced muscle damage. **British Journal of Sports Medicine**, Loughborough, v. 37, n. 2, p. 119-125, 2003.

HALLIWELL B.; GUTTERIDGE; J.M.C. Free radicals in biology and medicine Editora **Oxford Biosciences**, edição fourth, 2007.

HARMS-RINGDAHL, M.; JENSSEN, D.; HAGHDOOST, S. Tomato juice intake suppressed serum concentration of 8-oxodG after extensive physical activity. **Nutrition Journal**, Londres, v.11, n.1, p.2-5, 2012.

ISCD – INTERNATIONAL SOCIETY FOR BONE DENSITOMETRY. Body composition course. 2007. 81p. Disponível em: <<http://www.iscd.at/journal.php.html>>. Acesso em 10 nov. 2015.

JANSSEN, I.; HEYMSFIELD, S. B.; ROSS, R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. **Journal of the American Geriatrics Society**, New York, v.50, n.5, p. 889-896, 2002.

JURENKA, J.S. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. **Advances in pharmacological Science**, Hindawi, v.14, n.2, p.141-53, 2009.

KANAI, M.; IMAIZUMI, A.; OTSUKA, Y.; SASAKI, H.; HASHIGUCHI, M.; TSUJIKO, K.; MATSUMOTO, S.; ISHIGURO, H.; CHIBA, T. Dose- escalation and pharmacokinetic study of nanoparticle curcumin, a potencial anticâncer agente with improved bioavailability, in healthy human volunteers. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, Kioto, v. 69, n.34, p. 65-70, 2012.

KAPPO; A.P.; ADENOWO; F.A.; OYINLOYE; E.B. Reactive Oxygen Species, Apoptosis, **Antimicrobial Peptides and Human Inflammatory Diseases. Pharmaceuticals** (basel), Suíça, v. 8 n.2 p.151-175, 2015

KASTSORI, A.M.; PALAGANI, A.; BOUGARNE, N.; HADJIPAVLOU-LITINA, DINITRA, HAEGEMAN, G., BERGHE, V.W. A Inhibition of NF-kB signaling pathway by a Novel Heterocyclic curcumin Analogue. **Moléculas**, v.20, n.1, p. 863-878, 2015

KEITH, B. Nutrition and the Adaptation to Endurance Training. **Sports Medicine**, Greenwich, v.44 n.1, p. 5-12, 2014.

LAO, C. D.; RUFFIN, M. T.; NORMOLLE, D.; HEATH, D. D.; MURRAY, S. I.; BAILEY, J. M., BOGGS, M. E.; CROWELL, J.; ROCK, C. L.; BRENNER, D. E. Dose escalation of a curcuminoid formulation. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 6, n. 10, p.1-4, 2006.

LIRA, F.S; NETO, J.R.; PIMENTEL, G.D.; CAPERUTO, E. C.; MELLO, M.T.; RODRIGUES, B. MARQUES, S.O; SOUZA, T.C.; SANTOS, R. V.T. Importância dos efeitos fisiológicos do exercício na promoção da saúde. **Revista Inova Saúde**, Criciúma, vol. 1, 2012.

NICOL, M.L.; ROWLANDS, S.D.; FAZAKERLY, R.; KELLETT, J.; Curcumin supplementation likely attenuates delayed onset muscle soreness (DOMS). **European Journal of Applied Physiology**, v. 115, n.8, p. 1769-1777.

LIPPI G.; SCHENA, F.; SALVAGNO, G.L.; MONTAGNANA, M.; GELATI, M.; TAPERI, C.; BANFI, G.; GUIDI, GC. Acute variation of biochemical markers of muscle damage following a 21-km, half-marathon run. **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, Oslo, V. 68, n.7, p. 667-672, 2008.

MENEGHELO, R.S.; ARAÚJO, C.G.S.; STEIN, R. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Teste Ergométrico. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v.95, n.5 (supl. 1), p.1-26, 2010.

McCARTY, M.F.; DI NICOLANTONIO J.J.; O'KEEFE, J.H. Capsaicin may have important potential for promoting vascular and metabolic health, Inglaterra, **Open Heart**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2015.

McANULTY, S.R., McANULTY, L.S., NIEMAN, D.C.; DUNKE, C.L.; MORROW, J. D.; UTTER, A.C. O consumo de polifenóis de mirtilo reduz o estresse oxidativo induzido pelo exercício em comparação com vitamina C. **Nutrition Research**. Nova York, v. 24 n.3, p. 209-21, 2004.

MILISAV; I.; SUPUT; D.; POLJSAK; B. Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. Sweden, v.10 n.7 p. 115- 130, 2013

MORAIS, M.B.; MOURA, C.J.; FONTINELLI, L. et al. Avaliação do rendimento e teor de curcumina em açafrão (*Curcuma Longa L.*) cultivado em diferentes métodos de plantio. In: **IV Congresso de Pesquisa Ensino e Extensão, Goiânia**. Anais do IV Conpeex, 2007.

MOLDOVEANU A.I, SHEPHARD R.J, SHEK P.N. The cytokine response to physical activity and training. **Sports Medicina**, Geenwchn, n. 31, v.2, p. 1115-144, 2001.

PALACIOS, G.; CHAMIZO, P.R.; PALACIOS, N.; SANCHEZ, M.B.; AZNAR, S.; GROSS, G.M. Biomarkers of physical activity and exercise. **Nutricion Hospitalaria**, Madrid, v.31, sup.3 p. 237-241, 2015;

PETERNELJ, T.T.; COOMBES, J.S. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? **Sports Medicinal**, Londres, v.41, n.12, p.1043-1069, 2011.

POLJSAK, B. Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress. **Oxidants Medicine Cellular Longevity**, Japan, v.2011, p.1-15, 2011.

POWERS, S.K.; DUARTE, J.; KAVAZIS, A.N.; TALBERT, E.E. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. **Experimental Physiology**, Oxford, v. 95, n. 1, p. 1-9, 2010.

PUNGCHAROENKUL, K.; THONGNOPNUA, P. Effects of different curcuminoid supplement dosages on total in vivo antioxidant capacity and cholesterol levels of healthy human subjects. **Phytotherapy Research**, Londres, v. 25, p. 1721-1726, 2011.

PHAM-HUY. C., HE. H., PHAM-HUY. L.A. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International Journal of Biomedical Science**. Tawan v.4 n.2 p. 89-96, 2008

PINGITORE, A.; GIUSSEPPINA, P.P.L.; MASTORCI, F.; QUINONES, A.; LEVASI, G.; VASSALLE, C. Exercise and oxidative stress: Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. **Nutrition**, Bethesda, v.31, n. 7-8 p. 916-922, 2015.

POWERS, S.K.; JACKSON, M.J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 88, n.4, 243-276, 2008.

PYNE, D.B., Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. **Australian Journal of Science and medicine in sport**, Australia, v. 26, n. 34, p. 49-58, 1994.

PETRY, R.E.; ALVARENGA L. M.; Suplementações nutricionais e estresse oxidativo: implicações na atividade física e no esporte. **Revista Brasileira de Ciência e Esporte**, Florianópolis, v. 35, n. 4, p. 1071-1092, 2013

PETERSEN, A.M.W; PEDERSEN B.K.; The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal of Applied Physiology**, Whashington, n. 4 v. 98 p.1154-1162, 2005.

QUEIROZ, R.L.E. M.; MATTA, P.L.S., COSTA.B.N.M., PELUZIO G.M., RIBEIRO. R.M.S. A.; Formação das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Uberlandia, Bioscience Jornal**, v.21, n.3, p.133-149, 2005.

RAMADAN, G.; AL-KAHTANI, M.A.; El-Sayed, W.M. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Curcuma longa* (turmeric) versus *Zingiber officinale* (ginger) rhizomes in rat adjuvant-induced arthritis. **Inflammation**, Basel, v.34, n.4, p.291-301, 2011.

ROGERO, M. M.; MENDES, R.R.; TIRAPAGUI, J. Aspectos neuroendócrinos e nutricionais em atletas com overtraining. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 49, n.3, p. 359-368.

SAUGY J.; PLACE N.; MILLET G.Y.; DEGACHE, F.; SCHENA, F.; MILLET, G.P.; Alterations of Neuromuscular Function after the World's Most Challenging Mountain Ultra-Marathon. **PLoS One**, Londres, v.26, n. 6, 2013.

SASAKI, Y.; FURUSAWA, K.; TAJIMA, F.; NAKAMURA, T.; KOUUDA, K.; KANNO, N.; KAWASAKI T.; UMEMOTO, Y.; SHIMIZU, K.; Wheelchair marathon creates a systemic anti-inflammatory environment in persons with spinal cord injury. **Clinical Journal of Sport Medicine**, Londres, v. 24, n.4, p. 295-301, 2014.

SETHI G.; RANE G. ; KANCHI M.M ; ARFUSO F; CHINNATHAMBI A. ; ZAYED M.E. ; ALHARBI S.A. ; TAN B.K ; KUMAR A.P ; SHANMUGAM M.K . The Multifaceted Role of Curcumin in Cancer Prevention and Treatment. **Molecules**, Suíça, v.20, n. 2, p.2728-2729, 2015.

SCHAFFER, M.; SCHAFFER, P.M.; ZIDAN, J. et al. Curcuma as a functional food in the control of cancer and inflammation. **Current Opinion Clinical Nutrition Metabolic Care**. v.14, n.6, p.588-597, 2011.

SIDDIQUI, N.I.; NESSA, A.; HOSSAIN, M.A. Regular physical exercise: way to healthy life. **Mymensingh Medicine Journal**. v.19, n.1, p.154-158, 2010.

SIQUEIRA, O.L.; MUCCINI, T.; AGNOL, D.I.; TIBBOLA, P.; LUVISON, A.; COSTA, L.; MOREIRA, F.C.J. Análise de parâmetros bioquímicos séricos e urinários em atletas de meia maratona. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**, São Paulo, v. 53, n.9, p.844-852,2009.

SUZUKI, K.; YAMADA, M.; KURAKAKE, S. et al. Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. **European Journal Applied Physiology**, Londres, v.81, n.4, p.281-287, 2000.

SUETH-SANTIAGO, V.; SILVA, M.P.G.; DECOTÉ, D.; LIMA, F.E.M.; Curcumina, o pó dourado do açafrão-da-terra: Introspecções sobre química e atividades biológicas. **Química Nova**, Seropédica, v.38, n.4, 2015.

SINGH. S.; JAMWAL, S.; KUMAR, P.; Piperine Enhances the Protective Effect of Curcumin Against 3-NP Induced Neurotoxicity: Possible Neurotransmitters Modulation Mechanism. **Neurochemical Research**, Nova York, supl.29, 2015.

SCIBERRAS, J.N.; GALLOWAY, S.D.; FENECH, A. GRECH, G.; DUCA, D. MIFSUD, J. The effect of turmeric (Curcumin) supplementation on cytokine and inflammatory marker responses following 2 hours of endurance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, Woodland Park, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2015.

SOUZA, C.F.; FERANANDES, L.C.; CYRINO, C.; SERPELONI, E.; Produção de espécies reativas de oxigênio durante o exercício aeróbio e anaeróbio. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, São Paulo, v. 8, n. 2, 2006.

SUGAMA,K.; SUZUKI,K.; YOSHITANI, K.; SHIRAISHI, K.; MIURA, S.; YOSHIOKA H.; MORI Y.; KOMETANI T. Changes of thioredoxin, oxidative stress markers, inflammation and muscle/renal damage following intensive endurance exercise. **Exercise Immunology Review Journal**. Berlin, v. 21, n. 2, p.130-142, 2015.

SELKOW, M.M.; HERMAN, D.C.; LIU, Z.; HERTEL, J.; HART, J.M.; SALIBA, S.A. Blood Flow After Exercise-Induced Muscle Damage. **Journal of Athletic Training**, Florida, v. 50, n. 4, p.3-10, 2015

SCHNEIDER, D.C.; OLIVEIRA, R.A. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Niterói, v. 10, n.4, p.314-318, 2004.

SHARMA, R. A.; EUDEN, S.A.; PLATTON, S.L.; COOKE, D. N.; SHAFAYAT, A.; HEWITT, H.R, MARCZYLO, T.H.; MORGAN, B.; HEMINGWAY, D.; PLUMMER, S.M.; PIRMOHAMED, M.; GESCHER, A.J.; STEWARD, W.P. Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. **Clinical Cancer Research**, Filadelfia, v.10, n. 20, p. 6847–6854, 2004

SOUZA JR. T.; OLIVEIRA, P.R.; PEREIRA, B.P.; Exercício físico e estresse oxidativo Efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Niteroi. n. 1, v.11, 2005.

STRIMPAKOS, A. S.; SHARMA, R. A. Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. **Antioxid Redox Signal, Larchmont**, v. 10, n. 3, p. 511- 545, Mar. 2008.

SMITH L.L. TISSUE.; TRAUMA: the underlying cause of overtraining syndrome? **Journal of Strength and Conditioning Research**, Lincoln, v. 18, n. 2, p. 185-193, 2004

SMITH LL. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? **Medicine e Science in Sports e Exercise**.Stuttgart, n.2 v. 32 p. 317-331, 2000.

TAKAHASHI, M.; SUZUKI K.; KIM H. K.; OTSUKA Y.; IMAIZUMI A.; MIYASHITA, M.; SAKAMOTO, S. Effects of Curcumin Supplementation on Exercise Induced Oxidative Stress in Humans. **International Journal of Sports Medicine**, Germany, v.5, n.5, p. 469-475, 2013.

UCHOA, B.R.; FERNANDES R.C.; Rabdomiólise Induzida por Exercício e Risco de Hipertermia Maligna. Relato de Caso. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 53, n. 1, p.63-68, 2003.

VAREED, S. K. et al. Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v.17, n. 6, p.1411–1417, Jun. 2008.

VANCINI, R.L.; LIRA, C.A.B.; GUEDES, J. P.D.; SILVA, C.A.; LOISE V.; NOUAILHETAS, A influência do exercício sobre a produção de radicais livres, **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, Londrina, v. 10, n. 2, p.47-57 ,2005.

VELLA, L.; CALDOW, M.K.; LARSEN, A.E et al. Resistance exercise increases NF-κB activity in human skeletal muscle. **American Journal Physiology**, Bethesda, v.302, n.6, p.R667-673, 2012.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 157-166, 2009.

WAGNER, K.H.; REICHHOLD, S.; NEUBAUER, O. Impact of endurance and ultraendurance exercise on DNA damage. **Annals of the New York Academy of Sciences**, Nova York, v.1229, p.115-123, 2011.

Wagner KH, Reichhold S, Neubauer O.; Impact of endurance and ultraendurance exercise on DNA damage **Annals. of the New York Academy of Science**, Nova York, v. 12, n. 29, p. 115-123, 2011.

WALSH, N.P.; GLEESON, M.; PYNE, D.B. et al. Position statement. Part two: Maintaining immune health. **Exercise and Immunology Review**. Berlin, v.17, p.64-103, 2011

YANG, K. et al. Oral bioavailability of curcumin in rat and the herbal analysis from *Curcuma longa* by LC–MS/MS. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 853, n.1-2, p. 183-189, Mar. 2007.

YAVARI, A, JAVADI, M., MIMIRAN P., BAHADORAN, Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. **Asian Journal Sports Medicine**. Boston, v. 6, n.1, p.3-7, 2015.

ZENG, Y.; SONG, J.X.; SHEN, X.C. Herbal remedies supply a novel prospect for the treatment of atherosclerosis: a review of current mechanism studies. **Phytotherapy Research**. Londres, v.26, n.2, p.159-167, 2012.

ZHOU, H.; BEEVERS, C.S.; HUANG, S. The targets of curcumin. *Current Drug Targets*. **Hilversum**, v.12, n.3, p.332-347, 2011.

CAPÍTULO 2– ARTIGO CINENTÍFICO 1

DIFERENTES DOSAGENS DE *CURCUMA LONGA L.* NÃO AUMENTARAM AS CONCENTRAÇÕES PLAMÁTICAS DE CURCUMINA E A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM HOMENS SAUDÁVEIS

1. Laboratório de Investigação em Nutrição Clínica (Labince). Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás, Rua 227 Qd. 68s/nº - Setor Leste Universitário, Goiânia, Goiás, Brasil.

2. Faculdade de Farmácia (FF), Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil.

RESUMO

Introdução: A curcumina, um componente amarelo-alaranjado do açafrão, é derivado da planta *Cúrcuma longa L*, e vem sendo amplamente estudada devido à sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória. No entanto, a maioria dos estudos que avaliam a ação da curcumina foram realizados em animais e poucos evidenciam a ação da curcumina em humanos, sendo a maioria desenvolvidos com indivíduos que apresentam alguma doença crônica. **Objetivo:** Avaliar o efeito de diferentes dosagens de *Curcuma longa L* sobre as concentrações plasmáticas de curcumina e sua ação antioxidante em homens saudáveis. **Metodologia:** Foi realizado um ensaio clínico, duplo cego, *crossover* com período de *washout* de sete dias com nove homens saudáveis. Os indivíduos foram randomizados nos seguintes grupos: grupobaixa dosagem (1,5g de *Cúrcuma Longa L*), média dosagem (3,0g de *Cúrcuma Longa L*) e alta dosagem (6,0g de *Cúrcuma Longa L*). Inicialmente, foi realizada a coleta de sangue em jejum de 12h e após 30, 60, 120 e 180 minutos após a primeira coleta a fim de avaliar as concentrações plasmáticas de curcumina e a capacidade antioxidante total do plasma. **Resultados:** Os indivíduos apresentaram média de idade de $26,8 \pm 1,3$ anos e índice de massa corporal (IMC) de $23,31 \pm 0,75 \text{kg/m}^2$. Verificou-se que embora tenha observado um aumento da concentração de curcumina e da capacidade antioxidante na menor dosagem (1,5g), essa diferença não foi estatisticamente significativa. **Conclusão:** As dosagens de curcumina, administradas a partir da suplementação com cápsulas de *Curcuma longa L*, foram insuficientes para promover um aumento da capacidade antioxidante em homens saudáveis.

Palavras-chave: *Cúrcuma Longa L*, curcumina, dosagem, concentração e capacidade antioxidante.

INTRODUÇÃO

O açafrão ou *Curcuma Longa Linn*, membro perene da família das *Zingiberaceae* (JURENKA, 2009; MAHESHWARI et al., 2006; SHARMA; GESCHER; STEWARD, 2005), tem sido amplamente utilizado por séculos como tempero, conservante de alimentos e corante, além de ter sido tradicionalmente usado na medicina da China e Índia pelas suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antissépticas (BASNET; SKALKO-BASNET, 2011; HATCHER et al., 2008; VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009; ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011).

A curcumina, curcuminóide responsável pela coloração amarelo-alaranjado do açafrão, é considerada um polifenol natural de baixo peso molecular (JURENKA, 2009; MAITI et al., 2007; YANG et al., 2007; ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011). As atividades pleiotrópicas da curcumina derivam da sua capacidade de influenciar várias vias de sinalização como a do fator nuclear kappa B (NF- κ B), a de proteínas quinases, a de fatores de crescimento, a via do NF-E2-related factor 2 (Nrf2), bem como das enzimas ciclooxigenase 2 e 5-lipoxigenase, envolvidas com o estado inflamatório (HATCHER et al., 2008; ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011). A curcumina, também mostrou atividade na inibição da ativação induzida do NF- κ B por forbol-12-acetato-13-miristato (PMA) e por peróxido de hidrogênio, que estimulam a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), contribuindo para o estresse oxidativo (JURENKA, 2009).

Os efeitos da curcumina têm sido documentados (AL-RUBAEI et al., 2014; RAJASEKAR, DEVASENA, 2015), principalmente com estudos experimentais em animais. No entanto, estudos em humanos que relatem a ação antioxidante da curcumina, incluindo seus efeitos sobre os marcadores oxidativos são escassos. Os poucos estudos que evidenciaram a ação da curcumina em humanos foram desenvolvidos com indivíduos que apresentam alguma doença crônica com doses variadas (LAO et al, 2006; GACEA et al 2005). Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar as concentrações plasmáticas de curcumina, mediante a suplementação com diferentes dosagens de *Curcuma longa L* em homens saudáveis, e verificar se existe uma relação entre dose/absorção e capacidade antioxidante nas diferentes quantidades suplementadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e população

Tratou-se de um ensaio clínico, randomizado, duplo cego, cruzado (*crossover*), com duração de três semanas. O estudo constou de três momentos (M1, M2 e M3), cada um subdividido em nove etapas de avaliação: antes da administração das cápsulas de *Curcuma longa L.*, 20, 30, 35, 40, 45, 60, 90 e 120 minutos após a primeira coleta, com período de *wash out* de uma semana. (Figura 1).

O recrutamento dos voluntários foi realizado por meio de divulgação nas redes sociais, via telefônica, e nas dependências da UFG, através de convites aos alunos e funcionários que demonstraram interesse em participar, e apresentaram os seguintes critérios de inclusão: ser do sexo masculino, participar de todos os procedimentos estabelecidos, ter entre 20 e 40 anos. Foram excluídos do estudo aqueles que estivessem consumindo medicamentos, suplementos nutricionais, bebidas alcoólicas, em programa de restrição alimentar ou que estivessem utilizando o açafrão como condimento nas refeições nos últimos sete dias. .

Todos os indivíduos foram orientados sobre a pesquisa e aqueles que manifestaram concordância em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido em duas vias em conformidade com a resolução 466/12 sobre “Pesquisas envolvendo seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde”.

Desta forma, foram selecionados 15 indivíduos. No entanto, somente 9 completaram o estudo. Os indivíduos selecionados foram aleatoriamente distribuídos em três grupos experimentais: Grupo Suplementado alta dosagem (GSA) (n=3) que receberam doze cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L.*, grupo suplementado média dosagem (GSM) (n=3) que receberam seis cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L.* e seis cápsulas de 500mg contendo maltodextrina e grupo suplementado baixa dosagem (GSB) (n=3) que receberam três cápsulas contendo 500mg de *Curcuma Longa L.* e nove cápsulas contendo 500mg de maltodextrina. Foram realizados dois períodos de *washout* de uma semana (Figura 1) de forma que, ao final do estudo, cada grupo foi composto por 9 indivíduos.

Os indivíduos foram orientados a realizar jejum de 8h e foram instruídos a não ingerir alimentos com elevadas concentrações de curcumina durante todo o estudo. A *Cúrcuma Longa L.* foi fornecida pela Cooperativa dos Produtores de Açafrão de Mara Rosa, Goiás. A quantidade de curcumina no açafrão (5%) foi determinada previamente.

Avaliação laboratorial

Quantificação das concentrações plasmáticas de curcumina

Amostras de sangue foram coletadas via cateter venoso em tubos heparinizados nas nove etapas de cada momento do estudo. O sangue foi imediatamente centrifugado a 1.750 rpm durante 10 minutos a 4°C em centrífuga refrigerada (Beckman, Fullerton, CA, EUA) para separação do plasma. Posteriormente, as amostras foram adicionadas em tubos de ensaio de borosilicato envoltos por papel alumínio, para proteção contra a luminosidade, congeladas e armazenadas a -80°C até a análise.

Para cada alíquota de 2 mL de plasma foi adicionado 200 µL de padrão interno e 1800 µL de clorofórmio. Posteriormente, as amostras foram homogenizadas durante 10 segundos em vortex, e em seguida agitadas durante 5 minutos na intensidade 4. Após a agitação, os tubos foram levados a centrífuga, empregando a rotação de 5500 rpm durante 10 minutos. Com a separação de fases, retirou-se 1000 µL da fase orgânica e, posteriormente, transferiu-se a alíquota para outro tubo de borosilicato. Após a extração, as amostras foram levadas ao concentrador de amostras até evaporação completa em nitrogênio comprimido, por um período de 10 minutos, sendo então secadas. As amostras secas foram reconstituídas com 500 µL acetonitrila, colocadas em *vials* e injetadas no cromatógrafo (HPLC), juntamente com duas curvas de calibração e três grupos de controles de qualidade (alto, médio e baixa concentração). A quantificação das concentrações de curcumina plasmática das amostras foi realizada em HPLC de acordo com o método bioanalítico validado, seguindo os critérios estabelecidos pela *European Medicines Agency*. Todos os procedimentos de extração foram realizados sob luz fraca para evitar a degradação da curcumina.

Avaliação da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi avaliada pelo método descrito por Bobo-Garcia et al. (2015) com modificações. O método baseia-se na transferência de elétrons onde o DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), que possui cor púrpura, é reduzido, por ação de um antioxidante, formando diphenyl-picryl-hidrazyl, de coloração amarela, com consequente redução da absorção, podendo ser monitorada pelo decréscimo da absorbância.

Inicialmente, foi preparada uma solução de metanol 80%. Posteriormente, pesou-se 0,002g de DPPH que foi diluído em um balão volumétrico de 25 mL em metanol 80% (200 micromols/L). Após a diluição, a solução de DPPH foi colocada por 20 minutos no ultrassom para sua total solubilização.

Em seguida, em uma microplaca, foram pipetados 80 microlitros de metanol, representando a amostra controle e 80 microlitros do plasma diluído e desproteínizado em metanol, em triplicata. As mesmas amostras foram repetidas na fileira seguinte da microplaca, para realização do branco da amostra e do controle. Em seguida, foram pipetados 160 microlitros da solução de DPPH na primeira fileira, e 160 microlitros de metanol 80% na segunda fileira, sendo estes intercalados sucessivamente. As amostras foram, então, incubadas por 50 minutos, e as absorbâncias foram medidas à 517 nm.

O percentual de redução do DPPH foi determinado utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de redução DPPH} = [1 - (A \text{ amostra} - A \text{ branco} \div A \text{ controle} - A \text{ branco})] \times 100.$$

Análise estatística

As concentrações plasmáticas de curcumina e a capacidade antioxidante nas diferentes dosagens de suplementação de *Cúrcuma Longa L.* foram avaliadas quanto à distribuição de normalidade e homocedasticidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os resultados das variáveis paramétricas foram expressos sob a forma de média e desvio padrão (DP). As áreas sob a curva (AUC), para análise das concentrações plasmáticas e da capacidade antioxidante da curcumina, foram calculadas por meio do método trapezoidal.

Para comparação das médias entre os grupos, nas diferentes concentrações de curcumina plasmáticas, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis e para diferença entre os momentos o teste de Friedman. Para comparação da AUC foi realizado o teste de Kruskal-Wallis.

Na avaliação da capacidade antioxidante da curcumina nos tempos 0, 30, 60 e 120 foi realizada ANOVA *twoway* para medidas repetidas a fim de identificar interações significantes

entre tempo e tratamento. Para a AUC, as diferenças entre os grupos foram avaliadas pela ANOVA *oneway*. Todos os dados foram analisados utilizando o software STATA versão 12.0 e adotado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Foram selecionados para o estudo 15 homens eutróficos, sendo que destes, dois não atendiam aos critérios de inclusão e dois desistiram por motivos pessoais, totalizando uma amostra de onze homens. No entanto, no decorrer das três semanas do ensaio clínico, ocorreram duas desistências, uma por motivos pessoais e uma por doença e início do tratamento com antibióticos. Desta forma, nove homens completaram o estudo (Figura 2). Os voluntários apresentavam média de idade de $26,8 \pm 1,3$ anos, e IMC de $23,31 \pm 0,75\text{kg/m}^2$.

A Figura 3 demonstra o efeito da *Curcuma Longa L* sobre a concentração plasmática de curcumina e sobre a capacidade antioxidante do plasma, avaliada por meio do percentual de redução do DPPH analisado nos três diferentes grupos, nos respectivos tempos de coleta e dosagens.

É possível verificar que houve uma maior biodisponibilidade da curcumina e, conseqüentemente, uma maior capacidade antioxidante, no grupo que recebeu a suplementação de baixa dosagem (1,5g), no entanto, sem diferença estatística. Observa-se também uma oscilação das concentrações plasmáticas de curcumina com pontos em que a curcumina não foi detectável ou apresentou concentração muito baixa. Ao analisarmos a área abaixo da curva (AUC) para as concentrações plasmáticas de curcumina e para capacidade antioxidante (Figura 4), observa-se também uma área maior na menor dosagem, porém sem diferença estatística.

A tabela 1 apresenta os parâmetros farmacocinéticos para as concentrações plasmáticas de curcumina. A concentração máxima de curcumina observada foi de $41,63 \pm 87,93$ ng/mL (Tabela 1) no grupo que recebeu baixa dosagem e o tempo da concentração máxima foi similar entre os grupos de baixa e média dosagem (90 minutos), enquanto que, no grupo alta dosagem, o tempo de concentração máxima foi aos 40 minutos.

DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstraram que a curcumina presente na *Curcuma longa L* nas doses e condições que foram administradas apresentou baixa biodisponibilidade não sendo, portanto, capaz de proporcionar um aumento da capacidade antioxidante do plasma.

Além disso, foi observado que, em determinados pontos da coleta, a concentração sérica da curcumina foi muito baixa ou não detectável, apresentando oscilações de aumento e decréscimo. Essas oscilações no nível de detecção podem ser decorrentes do metabolismo da curcumina, uma vez que a absorção deste composto é seguida por sua conjugação no fígado (glicuronização e sulfatação), e excreção pela vesícula biliar. No intestino, ocorre sua desconjugação devido à ação das bactérias intestinais, sendo novamente absorvida. (METZLER et al., 2012). Além disso, a curcumina é rapidamente absorvida e metabolizada, sendo distribuída nos tecidos nos primeiros minutos. (PAWAR et al., 2012). Sendo assim, baixas concentrações plasmáticas observadas em estudos com curcumina, após a administração oral pode não ser devido apenas à má absorção e rápida metabolização, mas também pode ser decorrente da rápida distribuição tecidual.

Corroborando com nossos resultados, no estudo de Garcea et al., (2005), foram detectadas quantidades vestigiais de curcumina, inferior a 1 ng/mL, após a ingestão de 3,6 g de curcumina oral. Da mesma forma, outro estudo observaram que a suplementação com extrato de Cúrcuma em uma dosagem de 440 a 2200 mg/dia (36-180 mg de curcumina) em 15 pacientes com câncer colorretal avançado, por um período de 29 dias, não resultou no aumento da curcumina ou seus metabolitos no sangue ou na urina (SHARMA et al., 2001) Além disso, o consumo de mais de 8 g de curcumina por dia também não resultou no aumento das concentrações plasmáticas de curcumina proporcionalmente à dose administrada (LAO et al., 2006; VAREED et al., 2008), semelhante ao encontrado em nosso estudo. Desta forma, acredita-se que as concentrações plasmáticas de curcumina não aumentaram proporcionalmente à dose administrada, provavelmente devido à saturação do sistema de absorção.

O tempo de concentração máxima da curcumina em nosso estudo foi de 90 minutos, superior ao encontrado por Pawar et al., 2012, que observou uma concentração plasmática máxima em 30 -45 minutos. No entanto, neste estudo os autores usaram curcumina associada a formulação lipídica. A curcumina, por ser um composto altamente lipofílico, tende a ser absorvido mais rapidamente quando administrado em conjunto com lipossomas, micelas ou complexos fosfolipídicos (ANAND et al., 2007; SINGH, JAMWAL, KUMAR, 2015).

Quando administrados em jejum essa absorção pode se tornar ainda menor, uma vez

que a produção da bile, necessária para a solubilização de compostos hidrofóbicos como a curcumina, estará reduzida (ANAND et al., 2007). Em nosso estudo, as cápsulas foram administradas em jejum, o que pode ter interferido na absorção do composto e consequentemente, na sua influência sobre a capacidade antioxidante do plasma. O grau de estresse oxidativo a qual o indivíduo está submetido também pode influenciar o grau de saturação do sistema de absorção (KANAI et al., 2011), visto que a grande maioria dos estudos que analisaram o poder antioxidante da curcumina foram realizados em indivíduos que apresentam alguma doença crônica, dentre elas câncer de cólon descrito por Giuseppe et. al. (2005), câncer no pâncreas no estudo de Dhillon et al. (2008), na obesidade Alappat e Awad (2011), dentre outras doenças.

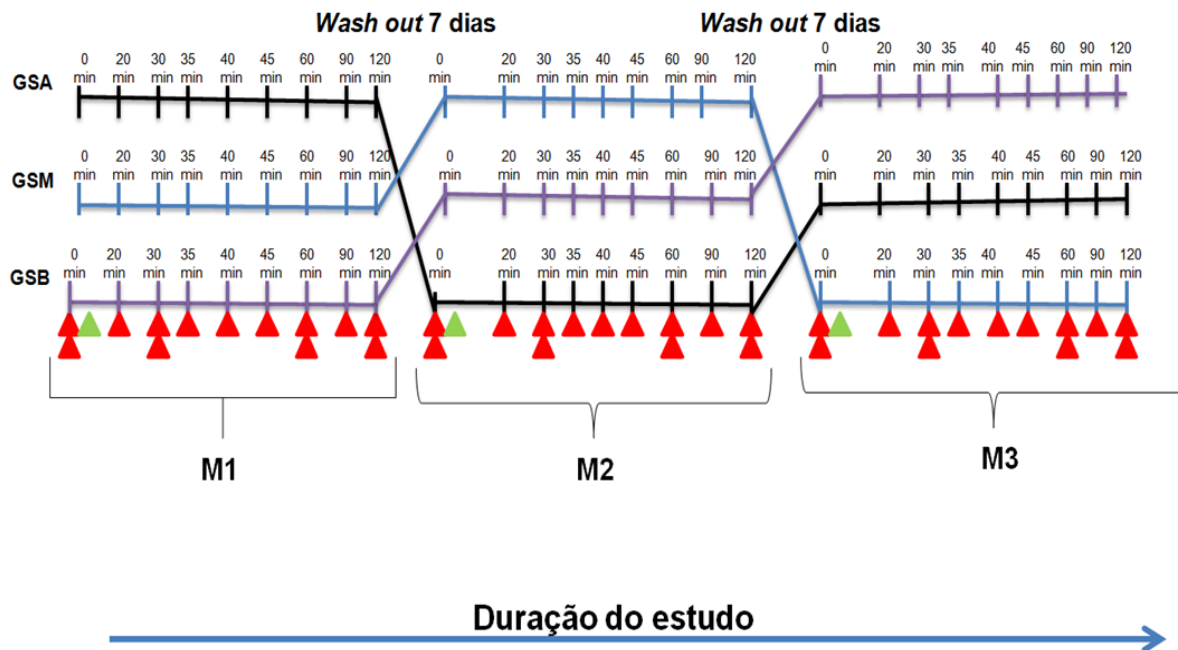
Este estudo teve como limitante o número pequeno de participantes, sugerindo que mais pesquisas sejam realizadas com um n maior. Portanto, conclui-se que *a Curcuma Longa L* nas doses e condições utilizadas nesse estudo não foi capaz de aumentar a concentração sérica de curcumina e a capacidade antioxidante do plasma em homens saudáveis. No entanto, considerando que alguns estudos apontam que a curcumina associada a fosfolipídios seria capaz de promover aumento da capacidade antioxidante, sugere-se que novos estudos sejam realizados com a administração da cúrcuma durante ou após as refeições com o intuito de aumentar a absorção dos compostos presentes nesse alimento e, consequentemente, sua ação sobre a capacidade antioxidante do organismo.

Conflito de interesse

Este estudo não possui nenhum conflito de interesse.

Financiamento

Este estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil (n° 44023/2013-6).



- Grupo suplementado com alta dosagem (GSA): Dosagem de 6000mg de açafrão, os indivíduos receberão 12 cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L*.
- Grupo suplementado com média dosagem (GSM): Dosagem de 3000mg de açafrão, indivíduos receberão 6 cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L* e 6 capsulas de 500mg contendo maltodextrina.
- Grupo suplementado com baixa dosagem (GSB): Dosagem de 1500mg de açafrão, indivíduos receberão 3 cápsulas de 500mg contendo *Curcuma Longa L* e 9 capsulas de 500mg contendo maltodextrina.
- M1- Primeira semana
- M2- Segunda semana
- M3- Terceira semana

- ▲ Ingestão de cápsulas
- ▲ Coleta de sangue venoso e análise bioquímica (1 tubo de 2mL)
- ▲ Coleta de sangue venoso e análise bioquímica (2 tubos de 2mL)

Figura 1. Protocolo experimental.

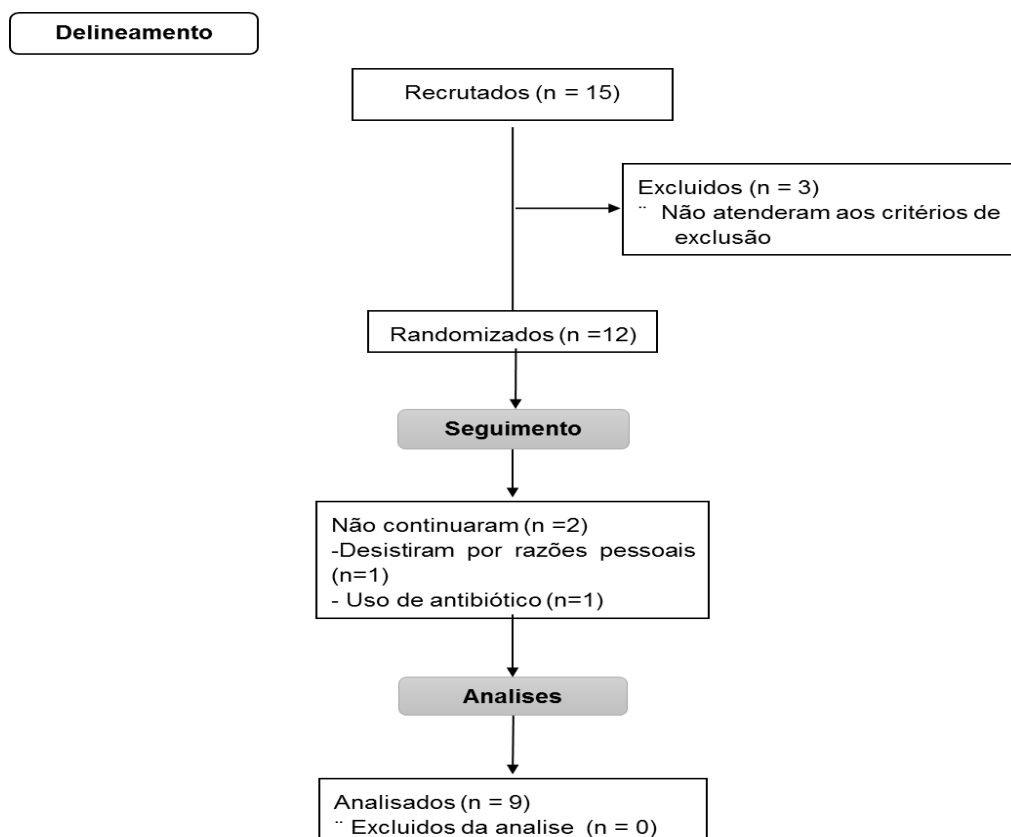


Figura 2. Diagrama de fluxo de participantes- CONSORT.

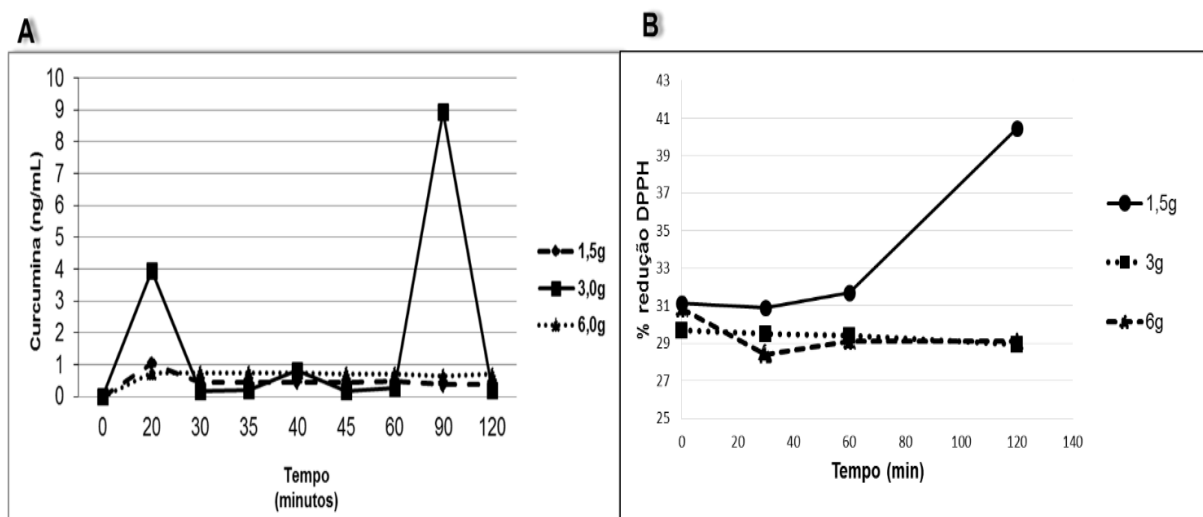


Figura 3 - Evolução das concentrações plasmática de curcumina (A) e da capacidade antioxidante (B) mediante as diferentes dosagens de *Curcuma longa L.*

Referências

BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. **Molecules Basel**, V. 16, N.6, P. 4567-4598, 2011.

BOZ, L.; BELVIRANLI, M.; OKUDAN, N. The curcumin modula muscle injury, but not the oxidative stress and antioxidant defence after workout eccentric in rats. **International Journal for Vitamin and Nutrition**, v. 84, n. 3, p. 163-172, 2014.

HATCHER, H.; PLANALP, R.; CHOB, J.; TORTI, F. M.; TORTI, S. V. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 65, n. 11, p. 1631-1652, 2008.

JURENKA, J. S. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. **Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic**, Sandpoint, v. 14, n. 3, p. 141-153, 2009.

LAO, C. D.; RUFFIN, M. T.; NORMOLLE, D.; HEATH, D. D.; MURRAY, S. I.; BAILEY, J. M., BOGGS, M. E.; CROWELL, J.; ROCK, C. L.; BRENNER, D. E. Dose escalation of a curcuminoid formulation. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 6, n. 10, p.1-4, 2006

MAHESHWARI, R. K.; SINGH, A. K.; GADDIPATI, J.; SRIMAL, R. C. Multiple biological activities of curcumin: A short review. **Life Sciences**, Oxford, v. 78, n. 18, p. 2081-2087, 2006.

MAITI, K.; MUKHERJEE, K.; GANTAIT, A.; SAHA, B. P.; MUKHERJEE, P. K. Curcumin–phospholipid complex: Preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 330, n. 1-2, p. 155-163, 2007.

RAJASEKAR U., DEVASENA T., Facile synthesis of curcumin nanocrystals and validation of its antioxidant activity against circulatory toxicity in wistar rats, **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n.6, p. 4119 -4125, 2015.

RUBAEI, Z.M., MOHAMMAD, T.U, ALI, L.K. **Effects of local curcumin on oxidative stress and total antioxidant capacity in vivo study**. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 12, p. 1237-1241, 2014.

SHARMA, R. A.; GESCHER, A. J.; STEWARD, W. P. Curcumin: The story so far. **European Journal of Cancer**, Oxford, v. 41, n. 13, p. 1955-1968, 2005.

SHARMA, R. A.; MCLELLAND, H. R.; HILL, K. A.; IRESON, C. R.; EUDEN, S. A. MANSON, M.M. PIRMOHAMED, M. MARNETT, L. J. GESCHER, A. J. STEWARD, W. P. Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral *Curcuma* extract in patients with colorectal cancer. **Clinical Cancer Research**, Philadelphia, v. 7, p. 1894–1900, 2001.

SHARMA, R. A.; STEWARD, W. P.; GESCHER, A. J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin. **Advances in experimental medicine and biology**, New York, v. 595, p.453-470, 2007.

SHEN, L.; JI, H.F. The pharmacology of curcumin: is it the degradation products? **Trends in Molecular Medicine**, Oxford, v.18, n. 3, p. 138-144, 2012.

SHOBA, G.; JOY, D.; JOSEPH, T.; MAIEED, M.; RAJEMDRAN, T.; SRINIVAS, P. S. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. **Planta Medica**, Stuttgart v. 64, n.4, p.353-356, 1998.

STRIMPAKOS, A. S.; SHARMA, R. A. Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. **Antioxidants and redox signaling**, Larchmont, v. 10, n. 3, p. 511- 545, 2008.

VAREED, S. K.; KAKARALA, M.; RUFFIN, M. T.; CROWELL, J. A.; NORMOLLE, D. P.; DJURIC, Z.; BRENNER, D. E. Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, Philadelphia, v.17, n. 6, p.1411–1417, 2008.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 157-166, 2009.

YANG, K.; LIN, L.; TSENG, T. WANG, S.; TSAI, T. Oral bioavailability of curcumin in rat and the herbal analysis from *Curcuma longa* by LC–MS/MS. **Journal of Chromatography - B - Analytical Technologies in the Biomedical and Life**, Amsterdam, v. 853, n.1-2, p. 183-189, 2007.

ZHOU, H.; BEEVERS, C. S.; HUANG, S. The targets of curcumin. **Current Drug Targets**, Hilversum, v. 12, n. 3, p. 332-347, 2011.

CAPÍTULO 3 – ARTIGO Científico 2

Curcuma supplementation fails to attenuate muscle damage following a half-marathon run: a double-blind, placebo-controlled, randomized

¹Laboratory of Research in Clinical Nutrition and Sports (Labince), Nutrition Faculty, Federal University of Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brazil, 74.605-080

²School of Arts, Sciences and Humanities, University of São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil, 03.828-000

*Corresponding author: João Felipe Mota. Laboratory of Research in Clinical Nutrition and Sports (Labince), Nutrition Faculty, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil. St. 227, block 68, Setor Leste Universitário, Goiânia GO, Brazil, 74.605-080. Phone/Fax Number: +55(62)3209-6270. E-mail: jfemota@gmail.com

Abstract

Background: Strenuous exercise result in muscle damage. Oral curcumin appears to reduce pain associated with delayed onset muscle soreness and enhance recovery of muscle performance. **Aim:** The purpose of this study was to examine the chronic effect of curcuma intake after a half-marathon run on indirect markers of muscle damage. **Methods:** Twenty-eight men completed a double-blind randomized-controlled trial. *Curcuma Longa L.* (GS) or placebo (GP) was taken twice daily (two capsules during the lunch and one capsule during the dinner) for 4 weeks, then three capsules immediately before the half marathon. Measurements were made at baseline (M0), 20 days after supplementation (M1), immediately before (Pre), after the half marathon (Post), two hours after the half marathon (2 h post), 24 hours after the half marathon (24 h post), and 48 hours after the half marathon (48 h post), comprising: CK, LDH, ALT, AST, myoglobin, muscle soreness and unilateral leg flexion one-repetition maximum strength. **Results:** SG decreased muscle soreness in palpation of biceps femoris 48-h after half-marathon run ($P < 0.05$). No difference between groups was observed in ALT, AST, CK, LDH. Myoglobin concentrations were lower after 2 h post competition in SG when compared to PG. **Conclusions:** Curcuma did not reduce muscle damage after a half-marathon run, but improved muscle soreness after competiton.

Keywords: curcumin, exercise, muscle damage.

Introduction

The muscle damage resulting from vigorous exercise is characterized by sarcolemma disruption, swelling or disruption of the sarcotubular system, distortion of the myofibrils contractile components, cytoskeletal damage and extracellular myofiber matrix abnormalities. (Fridén & Lieber, 1992). The reduction in neuromuscular function, reduced range of motion and the increased muscle soreness are consequences of muscle damage (Howatson, Someren, 2008).

Several studies have shown that the half marathon race increases oxidative stress, inflammation and muscle damage (LIPPI et al. 2008, WAGNER et al., 2011, SAUGY et al., 2011). This race increases the lactate dehydrogenase, creatine kinase and aspartate aminotransferase activities for 24 hours (LIPPI et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2009).

Some studies have attempted to attenuate the inflammatory effects of exercise using antioxidant and anti-inflammatory supplements (HOWATSON et al. 2010; TROMBOLD et al. 2010). Among these substances, it has been demonstrated that curcumin has anti-inflammatory effect by downregulating the nuclear factor-kappa B (NF-kB), thereby suppressing the expression of IL-6 and TNF- α (Cho et al 2007; Aggarwal et al., 2006 Curcumin (diferuloylmethane) is an extract from the root of the curcuma plant, commonly known as turmeric root. Curcumin gives the spice turmeric its distinctive yellow colour (ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011).

A recent study showed that oral curcumin reduced pain associated with delayed onset muscle soreness with evidence for enhanced recovery of muscle performance (Nicol et al., 2015). Another study observed that men supplemented with curcumin decreased smaller and recovered faster the maximal voluntary contraction and decreased the serum creatine kinase activity (CK) activity (Tanabe et al., 2015). In these studies, curcumin has been used in a short period of time. The effect of chronic use of curcumin on the muscle damage has yet to be clarified. The purpose of this study was to examine the chronic effect of *Curcuma Longa L.* supplementation on indirect markers of muscle damage after a half-marathon run.

Methods

Study design

The study was a randomized, double-blind, placebo-controlled, 2-arm parallel-group study. The intervention lasted 4 wk, and the evaluations were performed at 7 time points, at baseline (M0), 23 days after supplementation (M1), before the half-marathon (Pre), immediately after (Post), 2 hours (2 h Post), 24 hours (24 h Post) and 48 hours (48 h Post) after a half-marathon run (Figure 1 of supplementary material).

Subjects

The present study was composed by 28 healthy men (25 to 50 years old) that were experienced amateur half-marathon runners. The exclusion criteria were participation in a food restriction program, the presence of an acute disease requiring treatment, with chronic diseases, in antibiotic treatment or treatment with any drug known to affect the immune response. Participants with a history of chronic alcoholism and smoking were also excluded. The sample size was estimated using G*Power (v. 3.1.7) on the assumption that the curcumin ingestion could attenuate the plasma CK concentration by at least 5.18 %, if it was effective. On the basis of the power of 0.90 and alpha level of 0.05, a sample size of 15 per group was found to be necessary based on the data of a previous study (Leelarungrayub et al., 2011) in which a similar method was performed. Subjects maintained their normal food intake and lifestyle habits, and did not take anti-inflammatory drugs during the study period. All subjects gave their written informed consent to participate in the study, and all procedures were reviewed and approved by the ethical committee of the Federal University of Goiás (Protocol n°421.008). This trial was registered in ensaiosclinicos.gov.br (clinical trial UTN: U1111-1179-6335).

Random assignment and blinding

The randomization sequence was generated using a random numbers table (<http://www.randomization.com>). Allocation was concealed using sequentially numbered supplement. Investigators and participants were blinded by provision of the supplement by an independent research group not involved in the study according to the randomization protocol. The blinding code was provided to the investigators after the statistical analyses were completed. Only the study coordinator was not blinded to perform the production and labeling of the study products.

Intervention

Participants swallowed with water sealed identical opaque capsules containing either 500mg *Curcuma Longa L.* (supplemented group, SG) or maltodextrine (placebo group, PG) twice daily (two capsules during the lunch and one capsule during the dinner) for 29 days before the half, then three capsules immediately before the half marathon. The capsules were prepared by a pharmacist using a specific protocol. The dose was calculated from a previous pilot experiment performed by our research group that showed no differences in plasma curcumin concentration when was compared different doses of curcuma supplementation in accordance with the following amounts 1.5; 3.0 and 6.0 grams (data not show). Moreover, there is no treatment related toxicity evident for daily doses of curcumin of 8 g for 3 months (Hsu and Cheng 2007). Participants were asked to continue their training and the volume was calculated. Adherence to treatment was assessed by weekly phone calls and by counting empty packs. Participants were free to call or send messages and e-mails to the researcher at any time if they felt any discomfort during the intervention period.

Body composition

All measurements were performed by the same operator following standard procedures. The height of the subjects was measured during the selection phase to the nearest 0.5 cm with a stadiometer (Model Standard, Sanny®). Weight was measured, after voiding, with participants wearing light clothing to the nearest 0.1 kg on a digital scale (Filizola, Brazil). Waist circumference was measured on undressed subjects at the midpoint between the lower margin of the last palpable rib and the top of the iliac crest.

DXA assessments of fat mass (FM) and fat free mass (FFM) body fat percentage as well as android and gynoid fat were conducted using a General Electric Lunar Prodigy scanner (DPX NT, GE©) with Encore 2011 software (version 13.60, GE Healthcare). The coefficient of variation (CV) for the DXA tests of muscle and fat mass were 0.75% and 1.03%, respectively.

Protocol of muscle damage

All individuals participated in a half-marathon race (21 km) to induced muscle damage, which was at October 25, 2015, started at 7:00 am with average temperature of 29°C and wind of 16 km/h. The average inclination was 2.4% and maximum uphill and downhill were 12.9% and 12.8%, respectively.

Delayed onset muscle soreness

Delayed onset muscle soreness (DOMS) of the biceps femoral muscles were assessed using a visual analog scale (VAS), with “no pain” at one end of a 100-mm line and “extremely sore” at the other, when the muscle was palpated or stretch. In the palpation assessment, the investigator applied pressure to the medial part of the muscles with the tips of three fingers (II, III, and IV) for approximately 3 seconds. In the stretching assessment, the investigator applied the same force for approximately 3 seconds (Nosaka et al., 2002a; Nosaka et al., 2002b). To standardize the pressure applied, the same investigator repeated the assessment each day.

Unilateral leg extension one-repetition maximum (1RM) strength

The unilateral leg extension one-repetition maximum (1RM) strength testing of leg flexion strength was performed in a pinloaded leg flexion machine. Before testing, a 10 minute warm-up was performed on a cycle ergometer (60-70 rpm, 100 watt load) followed by a lower-body active stretching routine. After the half-marathon, it was not necessary to perform the warm-up. A single repetition to failure protocol was used, in which the load resistance was increased during successive attempts (each separated by a 3-minute rest) until a 1RM load was achieved using a proper technique through a full range of motion. For each participant, the back rest was moved to ensure that the knee joint was achieved using a proper technique through a full range of motion. For each participant, the back rest was moved to ensure that the knee joint was aligned to the pivot point of leg flexion machine. Trained spotters were always present to assist with the 1RM testing of participant (Costa et al., 2015).

Blood sampling and laboratory methods

Blood samples were drawn for each participant from the antecubital vein in the arm after a 12-h fast. The serum samples were separated from the whole blood by centrifugation at 3,500 rpm for 10 min (MARCA DA CENTRÍFUGA) and frozen at -80 °C until analysis. CK, Lactate dehydrogenase (LDH), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) concentrations were determined by automated enzymatic methods on Selectra 2 Merck®, using kits from Labtest Diagnóstica SA, with sensitivity 7,449 U/L; 0,054 mg/dL; 1,913 U/L; 1,751 U/L, respectively. The myoglobin concentration was determined immunochemically, with the help of the Myoglobin ELISA kit (X% and Y%) intra and inter-assay variability, respectively). All samples were analyzed in duplicate.

Statistical analysis

To ensure a normal distribution of variables, histogram and Kolmogorov-Smirnov tests were applied. Homogeneity of variance was verified with Levene's test. The results are expressed as the means \pm SDs. If significant changes were documented in one-way analysis of variance (ANOVA), Fisher's post hoc test was applied to locate the source of significant differences to identify within-group differences (before and after intervention). Inter-group comparison for the total work and mean eccentric peak torque during the exercise were made by a paired t test. $P < 0.05$ was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using STATA, version 12 (StataCorp, College Station, TX).

Results

A total of 40 men were enrolled but only 36 were eligible to participate in the study, and they were randomly allocated into the intervention groups. In total, 8 of the randomly allocated subjects discontinued the study (4 in SG and 4 in PG). Twenty-eight athletes concluded the study (SG, $n = 14$; PG, $n = 14$). Patient screening, enrollment, and retention by treatment group are shown in Figure 1. No adverse events were reported with the supplementation. The average age of athletes was 35.10 ± 7.83 . In the initial moment, anthropometric data, biochemical markers and the end time of a last half marathon were similar between groups ($P > 0.05$, Table 1). The volume of training did not differ between groups after 27 days of the study (158 ± 13.86 vs. 162 ± 11.20 , $P > 0.05$, Table 1).

The concentrations of CK and AST increased after 24h of half marathon in both groups showing an increase of muscle damage after a half-marathon (Figure 2A, C). The peak of LDH concentrations was in post competition in both groups, and return to normal levels after 24h, only in supplemented group when compared with M0, but without difference between groups (Figure 2B). ALT concentrations increased after post competition in reference to baseline (Figure 2D). Differences between groups were not observed in these analyses. Myoglobin concentrations increased 24 and 48h post a half-marathon in both groups. Two hours after competition, SG exhibited lower concentrations of myoglobin than PG (Figure 3).

SG showed lower muscle soreness in palpation of biceps femoral after 48-h after half-marathon run when compared with PG (Figure 4B). The unilateral 1RM declined in both groups post and 2-h post a half-marathon run, but without differences between groups (Figure 5). The duration of the half marathon race was 111.57 ± 24.99 min in SG and 103.92 ± 17.95 in PG ($P > 0.05$).

Discussion

To the authors' knowledge, this was the first double-blind, placebo-controlled, randomized study that evaluated the chronic effect of *Curcuma Longa L.* supplementation on muscle damage and delayed onset muscle soreness. The findings of this study showed that supplementation of *Curcuma Longa L.* did not attenuate muscle damage after performing a half-marathon race, but reduced pain sensation after 48 h.

The protocol used for obtaining muscle damage was efficient, as has been observed in previous studies of marathon runners (NIE, et al.; 2010; SIQUEIRA; et al.; 2009). The increased in indirect markers of muscle damage (CK, LDH, myoglobin, AST and DOMS) after a half-marathon may represent the magnitude of the damage induced by the competition. The muscle damage may be associated with altered membrane permeability and cell disruption, resulting in plasma protein extravasation (BRANCACCIO et al., 2006; HENRY, 2008).

The increased in AST and ALT activity after strenuous exercise may indicate liver and skeletal muscle damage (JASTRZEWSKI et al., 2015). For this reason, several studies have investigated the liver enzymes activity as a marker for muscle damage (DUFFIELD, CANNON, KING, 2010; LIPPI et al., 2012; WASKIEWICZ et al., 2012). Jastrzevski et al. (2015) suggested that the effort generated by ultra-marathon is at variance with health recommendations for generating liver damage. Curcumin would act as a protective potential, once the supplementation of curcumin for 4 months reduced the ALT and ROS concentrations, and inhibited the secretion of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-1), in rats with liver steatosis induced (VIZZUTTI et al., 2009). Curcumin reduced liver damage via inhibition of NF- κ B by reducing inflammation in the hepatic microcirculation (FAN et al., 2014). However, only experimental studies and models of hepatic steatosis assessed the outcome ALT and AST after supplementation with curcumin, and these results can not be extrapolated to humans. In this study, supplementation of *Curcuma Longa L.* for 4 weeks did not reduce the AST and ALT concentrations after the half-marathon when compared to the placebo group. This finding suggests that *Curcuma Longa L.* has no effect on an acute injury or that *Curcuma Longa L.* has no effect on the activity of hepatic transaminases.

In relation to the LDH concentrations, SG and PG increased by 43% and 35%, respectively, after the half-marathon run. According to Henry (2008), strenuous exercise can cause elevations by 25% of LDH concentrations. 24 hours after the half-marathon, there was a decrease in LDH concentrations in SG, approaching the baseline, which was not observed in PG. This suggests that *Curcuma Longa L.* accelerated this process of recovery. However, there

were not differences between groups. Interestingly, after 48 hours of half-marathon race, the LDH concentrations were lower than baseline in SG. These variations may be related to hormonal imbalance caused by strenuous exercise (FRANÇA et al., 2006).

Both groups increased CK activity and myoglobin concentrations, and its peak occurred 24 hours after the half-marathon race, with no difference between groups. This result did not support that obtained in experimental studies, wherein the curcumin was effective in reducing CK and myoglobin concentrations after a physical stress induction (BOZ, BELVIRANLI OKUDAN, 2015; DAVIS et al.; 2007). On the other hand, supplementation with a high curcumin bioavailability commercial supplement (Meriva©) did not reduce muscle damage evaluated by CK concentrations and muscle myeloperoxidase (DROBNIC et al.; 2014). However, the SG presented lower pain in the thigh biceps femoris. Another study showed that after strenuous physical exercise were not found effects on muscle damage, but there were a reduction in the pain sensation 24 hours after exercise (NICOL et al., 2015). This study was also observed decrease the pain sensation on the posterior thigh muscle palpation 48 hours after marathon. The curcumin appears capable of enhancing a behavioral response implies an important central nervous system component that may be related to less pain and perhaps reduced inflammatory cytokines (DAVIS et al.; 2007). The exact mechanism is still unknown in humans, but the mechanical damage can result in a variety of inflammatory responses, initially due to infiltrating cells, such as neutrophils and macrophages within the muscle that result in increased muscle, blood, and even brain concentrations of inflammatory cytokines. These responses can have profound effects on both physical and mental function (fatigue, perceived discomfort, impaired mood, and perhaps other cognitive deficits (SHENG et al., 2001, WILLOUGHBY et al., 2003).

A limitation of this study was not performing the unilateral 1RM test in times 24 and 48 hours after the half-marathon, allowing only the assessment of fatigue and no muscle damage. Most participants refused to perform the 1RM tests, claiming severe muscle pain and delay in testing. Another limiting factor was not evaluating the delayed onset muscle soreness after 72 hours, since this situation may last for more than three days. Furthermore, it was not performed tissue analysis by muscle biopsy. However, the study used the supplement *in natura* and induced muscle damage in real conditions.

These results suggested that *Curcuma Longa L.* did not reduce muscle damage, but was able to decrease the pain sensation after a marathon race. Thus, it is suggested to carry out further studies with chronic supplementation of *Curcuma Longa L.* on muscle damage indicators, pain and performance athletes.

Acknowledgements

We would like to thank Alcides correia de Moraes Júnior, Alexandre Albuquerque, Marina Monteiro Celestino, Anna Paula Oliveira Gomes, and Ronyson Soares for their help in data collection.

Conflicts of interest

We declare that we have no conflicts of interest.

Source of funding

The study was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil (grant no. 484023/2013-6). Study sponsors were not involved in the study design, or collection, analysis, and interpretation of data, in writing the manuscript or in the decision to submit the manuscript for publication.

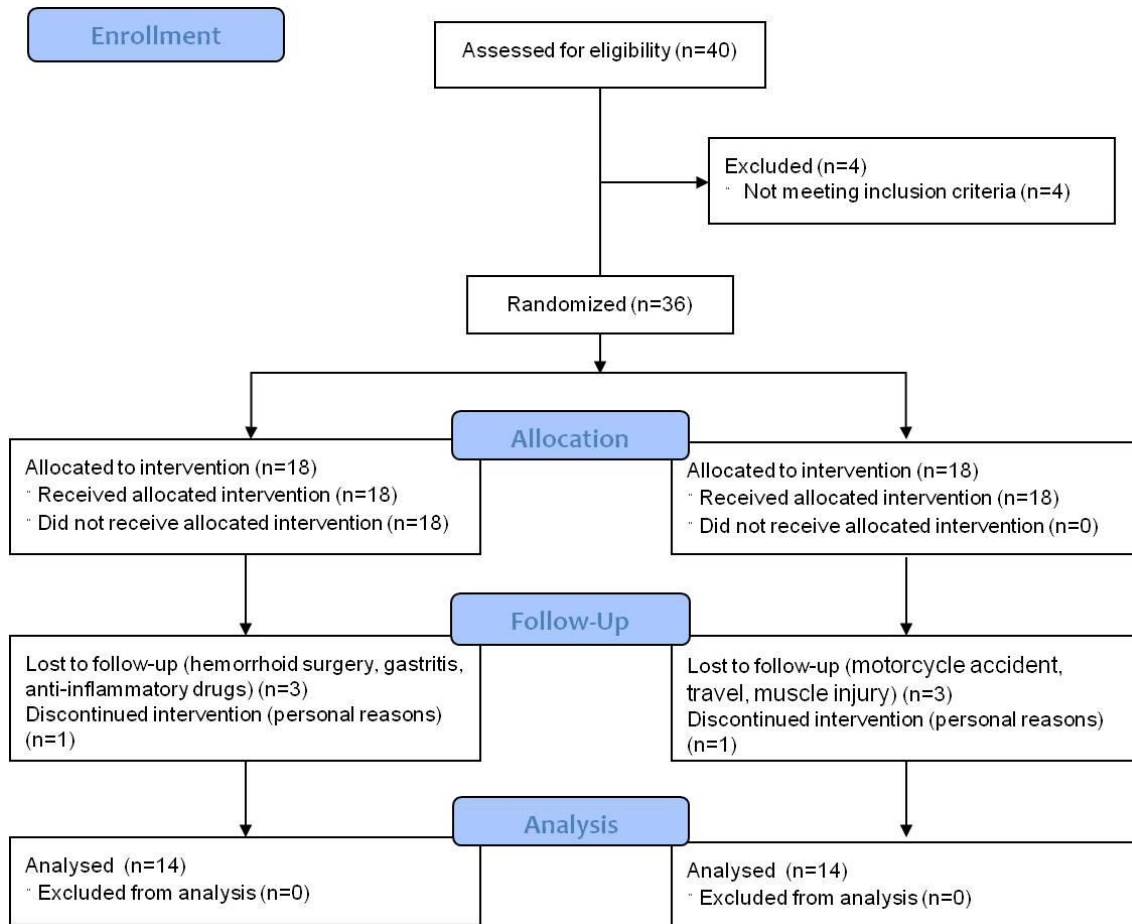


Figure 1. Participant flow through the study. Values are expressed as the number of participants.

Table 1. Baseline characteristics of participants.

	PG (n = 14)	SG (n = 14)
Age (years)	36.00 ± 9.19	34.14 ± 7.18
Body Weight (kg)	72.58 ± 9.8	70.36 ± 12.4
Adipose mass (kg)	15.85 ± 8.12	17.98 ± 9.77
Body Fat (%)	11.47 ± 6.87	13.02 ± 9.16
Lean Mass (%)	80.316 ± 7.53	78.476 ± 9.079
Lean Mass (kg)	56.88 ± 5.81	53.146 ± 5.18
Training volume (km)	158 ± 13.86	162 ± 11.20
ETLM (min)	106 ± 20.33	102.21 ± 22.98
CK (U/L)	5.68 ± 0.70	5.60 ± 0.73
LDH (U/L)	451.71 ± 72.83	445.85 ± 90.48
AST (U/L)	31.57 ± 13.84	31.21 ± 9.59
ALT (U/L)	27.71 ± 8.80	26.28 ± 9.10
Myoglobin (ng/mL)	63.35 ± 9.98	56.91 ± 13.02

Data expressed in mean ± SD. P > 0.05. PG: placebo group; SG: supplemented group; ETLM: end time of the last half-marathon.

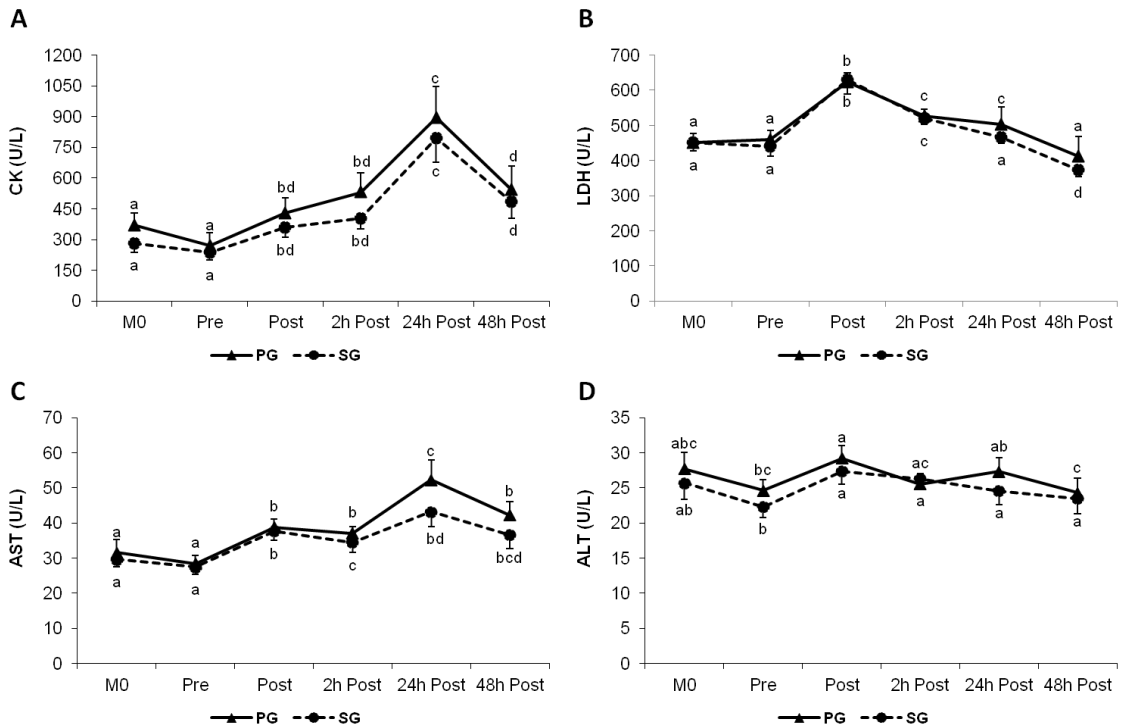


Figure 2. Effects of a half-marathon and supplementation on creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), and alanine aminotransferase (ALT) concentrations. Different letters mean statistical difference ($P < 0.05$) between times in the same group. PG: placebo group; SG: supplemented group; M0: baseline; Pre: before the half-marathon; Post: immediately after half-marathon; 2h post: 2 hours after the half-marathon; 48h post: 48 hours after the half-marathon.

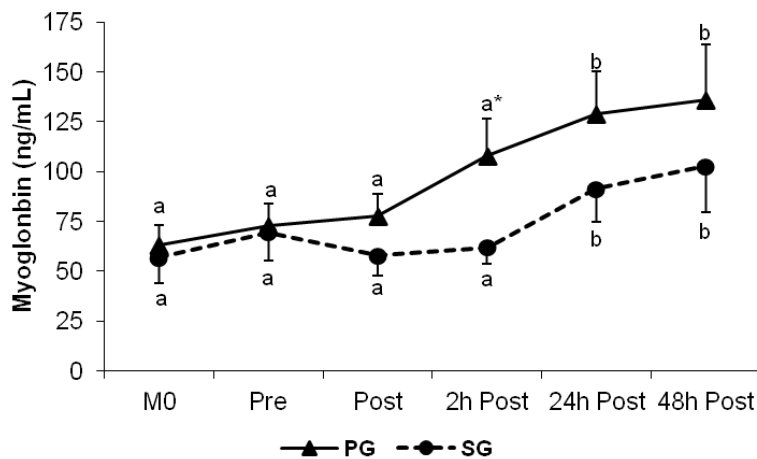


Figure 3. Effects of curcuma supplementation in myoglobin concentrations. PG: placebo group; SG: supplemented group; M1: three days before the half-marathon; Post: immediately after the half-marathon; 2h post: 2 hours after the half-marathon. Different letters mean statistical difference ($P < 0.05$) between times in the same group. * $P < 0.05$ vs. SG.

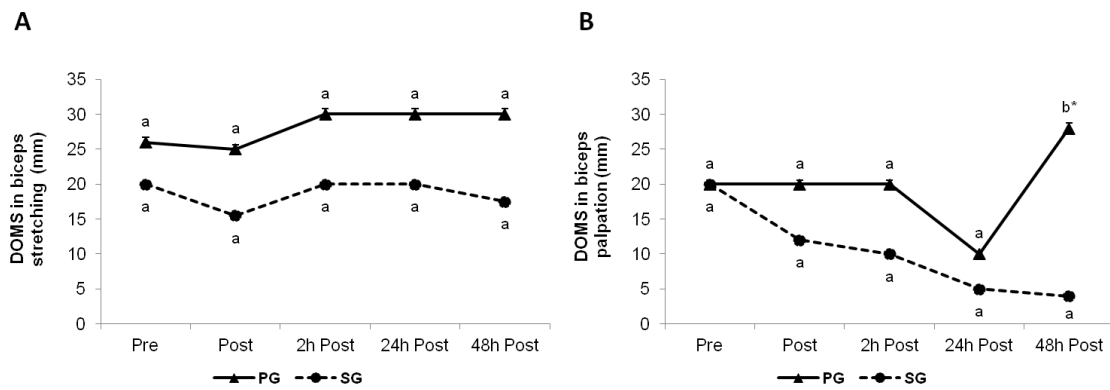


Figure 4. Effects of a half-marathon run and supplementation on delayed onset muscle soreness (DOMS) biceps stretching (A) or palpation (B). Different letters mean statistical difference ($P < 0.05$) between times in the same group. * $P < 0.05$ vs. supplemented group (SG). PG: placebo group. PG: placebo group; SG: supplemented group; M0: baseline; Pre: before the half-marathon; Post: immediately after half-marathon; 2h post: 2 hours after the half-marathon; 48h post: 48 hours after the half-marathon.

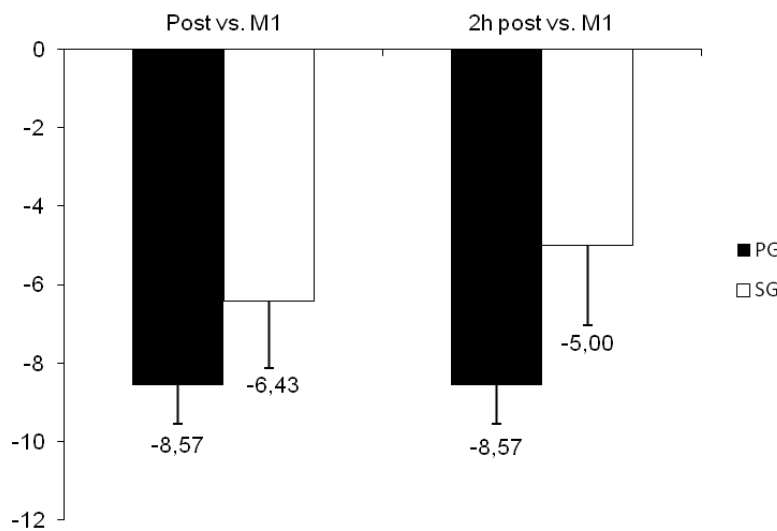


Figure 5. Effects of curcuma supplementation in unilateral leg flexion one-repetition maximum (1RM) strength. PG: placebo group; SG: supplemented group; M1: three days before the half-marathon; Post: immediately after the half-marathon; 2h post: 2 hours after the half-marathon. * $P < 0.05$.

Supplementary material

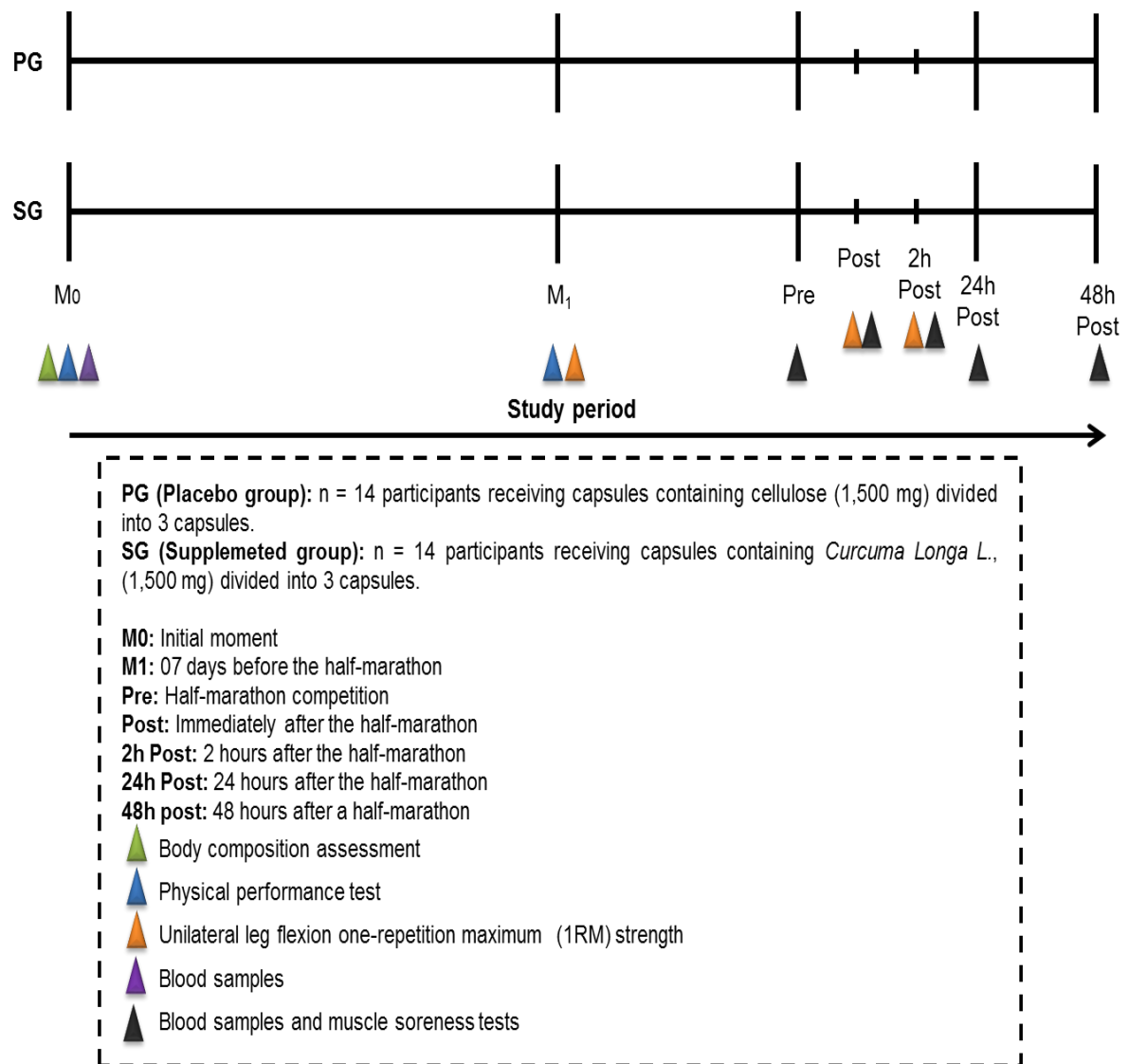


Figure 1. Experimental design.

References

AGGARWAL, S.; ICHIKAWA, H.; TAKADA, Y.; SANDUR, S.K.; SHISSHODIA, S.; AGGARWAL, B.B; Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates expression of cell proliferation and antiapoptotic and metastatic gene products through suppression of I κ B kinase and Akt activation, **Molecular Pharmacology**, Westbury, v. 60, n. 1, p. 195-206.

BANDEIRA, F.; NEVES, C.F; BARROSO, C.; NOHAMA, P.; MÉTODOS DE APOIO AO DIAGNÓSTICO DE LESÕES MUSCULARES. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, Rio Grande, v.10 n.5 p. 27-44, 2013

BRAMBLE, D.M, LIEBERMAN, D.E.; Endurance running and the evolution of Homo. **Nature**, Nova Yorke, v. 432, p. 345–352, 2004.

BRANCACCIO, P. LIMONGELLI, F.M.; MAFFULLIN, Acompanhamento das enzimas séricas no desporto, **Brazil journal sport medicine**, São Paulo, v. 40, p. 96-97

CHO, J.W; LEE, K.S.; KIM, C.W; Curcumin attenuates the expression of IL-1 β , IL-6, and TNF- α as well as cyclin E in TNF- α -treated HaCaT cells; NF- κ B and MAPKs as potential upstream targets. **International Journal of Molecular Medicine**, Atnes, v.19 n. 3, p.469–474, 2007.

COSTA, P.B.; GOMES, T.M.; BENTES, C.M.; BROWN, A.F., NOVAES, J.S. acute effects of different stretching techniques on the number of repetitions in a single lower body resistance training session. **Journal of Human Kinetics**, Chanpaign, v. 45, n.10, p. 177-185, 2015.

DAVIS, J.M.; MURPHY, E.A.; CARMICHAEL, M.D. et al. Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage. **American Journal Physiology endocrinology and metabolism**. Bethesda, v.292, n.6, p. 168-173, 2007.

FRANÇA, S.C.A.; BARROS NETO, T.L.; AGRESTA, M.C; FRAGA, R.M.; KATER, C.E.; Divergent responses of serum testosterone and cortisol in athlete men after a marathon race. **Arquivo Brasileiro de endrocnologia e metabologia**, São Paulo, v.5, n.6, 2006.

FRIDEN J., LIEBER, R.L Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. **Medicine and science in sports and exercise**, v.24, n.5, p.521-530, 1992.

HOWATSON G.; SOMEREN K.V., The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. **Sports Medicine**, v.38, n. 6, p. 483-503, 2008.

HOWATSON, G.; MCHUGH, M.P.; HILL, J.A.; BROUNER, J.; JEWELL, A.P.; SOMEREN, K.A.; SHAVE, R.E; HOWATSON, S.A.; Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. **Scandinavian sports medicine and Science**, v. 20, n. 6, p. 843-852, 2010.

JASTRZEWSKI, Z.; ZYCHOWSKA, M.; RADZIMINSKI, T.; KONIECZNA, A.; KORTAS, J.; Damage to Liver and Skeletal Muscles in Marathon Runners During a 100 km Run With Regard to Age and Running Speed, **Journal of Human Kinetics**, v. 45, n.29, p. 93-102, 2015.

KANDA, K.; SUGAMA, K.; KAWAKAMI, Y.; SUZUKI, K.; Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage. **Exercise Immunologia**, v. 20, n.2 p. 39-54, 2014.

KATZMARZYK PT AND JANSSEN I. The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. **Journal of applied physiology**, v. 29, p. 90–115, 2004.

LÉGER, L.; BOUCHER, R.; An indirect continuous running multistage field test: the Université de Montréal track test. **Canadian journal of applied sport sciences**, v. 5, n. 2, p.77-84, 1980.

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

NICOL, M.L.; ROWLANDS, S.D.; FAZAKERLY, R.; KELLETT, J.; Curcumin supplementation likely attenuates delayed onset muscle soreness (DOMS). **European Journal of Applied Physiology**, v. 115, n.8, p. 1769-1777.

NIE, J.; TONG, K.T.; FU, H. F.G.; LIN, H.; Esting and post-exercise serum biomarkers of cardiac and skeletal muscle damage in adolescent runners, **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 21, n.5, p. 625-629, 2011.

NOSAKA, k.; NEWTON, M.; SACCO, P.; Delayed-onset muscle soreness does not reflect the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 12, n. 6, p. 337-346, 2002

RADAK, Z.; ZHONGFU, Z.; KOLTAL, E.; OHNO, H.; ATALAY, M, MUSTAFA ATALAY. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ros-dependent adaptive signaling. **Antioxidants e Redox**, v.18, n. 10, p. 1208-1246, 2013.

SHENG W. S., HU S., DING J. M., CHAO C. C., PETERSON P. K. Cytokine Expression in the Mouse Brain in Response to Immune Activation by *Corynebacterium parvum*. **Clin Vaccine Immunol March**, v.8, n.2, p. 446-448, 2001.

TANABE, Y.; MAEDA, S.; AKAZAWA, N.; ZEMPO-MIYAKI, A., CHOI, Y RA, S.G.; IMAIZUMI, A.; OTSUKA, Y.; INOSAKA, K.; Attenuation of indirect markers of eccentric exercise-induced muscle damage by curcumin. **European Journal of Applied Physiology**, v. 115, n.9, p. 1949-1957.

TREMBLAY MS, SHEPHARD RJ, BRAWLEY LR, CAMERON C, CRAIG CL, DUGGAN M, ESLIGER DW, HEARST W, HICKS A, JANSSEN I, KATZMARZ YK PT, LATIMER AE, GINIS KA, MCGUIRE A, PATERSON DH, SHARRATT M, SPENCE JC, TIMMONS B, WARBURTON D, YOUNG TK, AND ZEHR L. Physical activity guidelines and guides for Canadians: facts and future. **Can Journal Public Health**, Suppl 2: S218–S224, 2007.

TROMBOLD, J.R.; BARNES, J.N.; CRITCHLEY, L.; COYLE, E.F.; Ellagitannin consumption improves strength recovery 2–3 d after eccentric exercise. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 42, n.3, p.493–498, 2010.

VASILAKI, A.; MANSOURI, A., REMMEN, H. V. Free radical generation by skeletal muscle of adult and old mice: effect of contractile activity aging cell. **Aging Cell**, v.5, n. 2, p.109–117, 2006.

VIZZUTTI, F., PROVENZANO, A, GALASTRI, S, MILANI, S, DELOGU W, NOVO E, CALIGIURI, A, ZAMARA, E, ARENA, U, LAFFI, G, PAROLA M, PINZANI M, MARRA F.; Curcumin limits the fibrogenic evolution of experimental steatohepatitis. **Laboratory Investigation**, v. 112, n. 5, p. 1679-1688, 2012.

WAŚKIEWICZ Z, KŁAPCIŃSKA B, SADOWSKA-KRĘPA E, CZUBA M, KEMPA K, KIMSA E., Metabolic responses Gerasimchuk D. acute to an ultramarathon race 24 hours in male amateur runners. **European Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 5, p. 1679-1688, 2012.

WILLOUGHBY D.S.; MCFARLIN, B.; BOIS, C.; Interleukin-6 expression after repeated bouts of eccentric exercise. **International Journal of Sports Medicine**, Texa, v. 24, n.1, p. 15-21, 2003.

CAPÍTULO 4 – ARTIGO científico 3

A suplementação crônica de curcuma aumenta as concentrações de IL-10 após uma meia maratona

¹Laboratory of Research in Clinical Nutrition and Sports (Labince), Nutrition Faculty, Federal University of Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brazil, 74.605-080

²School of Arts, Sciences and Humanities, University of São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil, 03.828-000

*Correspondência: João Felipe Mota, Laboratório de Investigação em Nutrição Clínica (Labince). Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás, Rua 227 Qd. 68s/nº - Setor Leste Universitário, Goiânia, Goiás, Brasil, 74.605-080. Telefone/Fax Número: +55(62)3209-6270. E-mail: jfemota@gmail.com

RESUMO

O exercício físico extenuante eleva a produção de espécies reativas de oxigênio, provocando dano muscular acompanhado de um processo inflamatório. A curcumina, componente amarelo-alaranjado do açafrão, derivado da planta *Cúrcuma Longa L.*, tem sido recentemente estudada no campo esportivo devido à sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória. Objetivo: Avaliar os efeitos da suplementação crônica de cúrcuma sobre o desempenho físico e os marcadores de inflamação após uma meia maratona. Metodologia: Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo controlado com duração de 32 dias. Vinte e oito corredores amadores foram suplementados com placebo (GP, 1,5g de celulose, n = 14) ou cúrcuma (GS, 1,5g de cúrcuma, n = 14). Os participantes foram avaliados quanto ao desempenho físico no 23º dia de suplementação e ao final de 30 dias realizaram uma prova de meia maratona (21 km). Foram avaliadas as interleucinas 6 e 10 (IL-6, 10) e proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) nos momentos inicial, pré-competição, pós-competição, 2 horas após, 24 h após e 48 h após a competição. Resultados: A média de idade dos corredores foi de $35,03 \pm 6,47$ anos. Somente GS apresentou aumento no desempenho físico (17,5%, $P < 0,05$). As concentrações de IL-6 e IL-10 aumentaram logo após a meia maratona, enquanto que as de MCP-1 24 h após a corrida. GS mostrou maiores concentrações de IL-10 quando comparado ao GP (190% vs. 116%, $P < 0,05$). Conclusão: A suplementação de cúrcuma aumenta as concentrações de IL-10 após uma corrida de meia maratona.

Palavras-chave: cúrcuma, inflamação, desempenho, exercício.

INTRODUÇÃO

O exercício físico extenuante pode causar um desequilíbrio da homeostase em decorrência da produção excessiva das espécies reativa de oxigênio (ERO), as quais excedem a capacidade de defesa antioxidante endógeno (JACSON et al, 2016). O aumento das ERO provoca o dano muscular, que pode variar desde uma lesão ultraestrutural até o rompimento total da musculatura, e em sequência o processo inflamatório (WAGNER et al., 2011). O processo inflamatório é inicialmente caracterizado pela rápida elevação de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas IL-6, IL-1 β e IL-8, e posteriormente por uma resposta antiinflamatória com aumento das concentrações de IL-6, IL-10 e IL-1ra (SMITH et al., 2007).

O aumento dos estados oxidativos e inflamatórios causam disfunções contráteis que resultam em fraqueza, dor muscular, lesões musculares e diminuição do desempenho físico (PALACIOS, et al 2015). Estratégias nutricionais, como a suplementação de antioxidantes e antiinflamatórios, têm sido cada vez mais estudadas para atenuar estes efeitos (CABRERA et al., 2006; HARMS-RINGDAHL et al, 2012).

Devido às suas propriedades antissépticas e anti-inflamatórias, a cúrcuma foi utilizada para tratamento de várias doenças (HATCHER et al., 2011; ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011), e recentemente é investigada no campo esportivo (TAMAKASHI et al., 2013; DROBNIC et al., 2014). Em ratos, a suplementação de curcumina reduziu as concentrações de IL-6, IL-1 e proteína quimioatrativa de monócitos (MCP-1), além de melhorar o desempenho físico, força e fadiga após exercício resistido (HUANG et al, 2015). Por outro lado, a suplementação de curcumina em humanos aumentou as concentrações de IL-6 após o exercício, sem diferenças no TNF- α (NICOL et al., 2015). Drobnic et al. (2014) não observaram diferenças nas concentrações de proteína C reativa, IL-8 e MCP-1 após um protocolo de dano muscular no grupo suplementado com curcumina. Ambos os estudos apontam para a necessidade de uma suplementação crônica e avaliação de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito crônico da suplementação de *Curcuma Longa L.* sobre os marcadores de inflamação e desempenho físico após uma meia maratona.

MÉTODOS

Delineamento

O estudo foi um ensaio clínico, duplo cego, placebo controlado com intervenção de quatro semanas, custando de sete momentos, momento inicial (M0), após 23 dias após a suplementação (M1), imediatamente após a meia maratona (Após), duas horas após a meia maratona (2h após), vinte quatro horas a meia maratona (24h após) e quarenta oito horas após a meia maratona (48h após).

População

O presente estudo foi composto de 28 homens saudáveis praticantes de corrida de rua com média de idade de $35,03 \pm 6,47$ anos, % gordura corporal $19,06 \pm 10,01$, % massa livre de gordura $77,32 \pm 8,64$. Os critérios de exclusão foram: participar de um programa de restrição alimentar; diagnóstico de doenças imunes ou em uso de medicamentos imunossupressores; diagnóstico de enfermidades hepáticas, renais; e/ou cardiopatias; etilista crônico e fumante; em uso de suplementos nutricionais; em uso de antibióticos e/ou anti-inflamatórios; em processo inflamatório ou infeccioso. O tamanho da amostra foi estimado *a priori* com base no teste F para medidas repetidas com interação *within-between* usando o software G*Power versão 3.1.7 (FAUL et al., 2007). Assumindo uma redução de 5,18% nos níveis de CK após exercício no grupo suplementado com N-acetilcisteína com o tamanho do efeito ("*effect size*") de -0,42, como reportado por Leelarungrayub et al. (2011), o tamanho da amostra necessária para atingir um poder de 0.90 é de $n = 14$ em cada grupo, adotando um nível de significância de 5%.

Todos os indivíduos foram orientados sobre a pesquisa e aqueles que manifestaram concordância em participar do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido em duas vias em conformidade com a resolução 466/12 sobre "Pesquisas envolvendo seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde". O projeto foi aprovado Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Goiás (Protocolo nº421.008).

Randomização

A sequência de randomização foi gerado utilizando uma tabela de números aleatórios (<http://www.randomization.com>), da qual foi considerado recordatório alimentar, tempo da ultima meia maratona e idade. Alocação foi ocultada usando sequencialmente numérico. A suplementação foi cegada por um pesquisador não envolvido nesta pesquisa, de tal modo que nem os voluntários e nem o pesquisador responsável sabia (de acordo com o protocolo de

randomização). O código do estudo foi fornecido aos investigadores após as análises estatísticas serem concluídas. Apenas o coordenador do estudo não foi cegado pois realizou a produção e rotulagem dos produtos do estudo.

Intervenção

Os participantes receberam capsulas idênticas com cores opacas, contendo 500mg de curcuma (grupo suplementado, GS), e 500 mg de celulose (grupo placebo, GP) durante 29 dias (duas cápsulas durante o almoço e uma cápsula durante o jantar), e ainda receberam 3 cápsulas antes da prova de meia maratona. A aderência ao tratamento foi controlado por ligações semanais, e o lembrete da ingestão de capsula, era enviado por mensagem telefônica todos os dias nos dois horários estabelecidos (almoço e jantar). Nenhum participante relatou desconfortos durante a intervenção.

Composição corporal

Os valores de massa livre de gordura (MLG) e o percentual de gordura corpórea total (%G) foram avaliados pelo método de absorciometria radiológica de feixe duplo (DXA) em equipamento modelo DPX NT GE©.

Protocolo de dano muscular

Todos os participantes realizaram uma prova de meia maratona (21 km) para a indução do dano muscular, no dia 25 de Outubro de 2015, com largada às 7 horas da manhã, temperatura media de 29°C e vento de 16 km/h. A prova contou com inclinação média de 2,4%, inclinação e declive máximos de 12,9% e 12,8%, respectivamente.

Avaliações laboratoriais

Após a coleta, os tubos de sangue continha EDTA, para a separação do plasma. Foram imediatamente centrifugados por 10 minutos a 3500 rpm a 4°C.

As concentrações, IL-6, IL-10, MCP-1 foram quantificadas no plasma pela metodologia ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), com a utilização de uma leitora de microplacas da marca SpectraMax plus 384 Absorbance Microplate Reader (San Diego, California, USA) com um filtro de 450 nm, para leitura das absorbâncias, sendo todas as análises realizadas em duplicata. Para as análises das concentrações circulantes de IL-6 e IL-10 utilizou-se de kits reagentes da marca Ebioscience com sensibilidade de 200 pg/ml e 300 pg/ml, respectivamente,

e MCP-1 utilizou-se de kits reagentes da marca R&D System® com sensibilidade de 1000 pg/ml.

Análise estatística

Foram avaliados quanto a normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para avaliação pareada entre os momentos foi realizada ANOVA one-way, caso fosse constatada diferença estatística, o teste de Friedman foi realizado para verificar os momentos diferentes. As diferenças entre os grupos foram avaliadas a partir do teste T de Student ou Mann Whitney. O nível de significância adotado foi de 5%. Todas as análises foram realizadas utilizando o software Stata versão 12.0.

Resultados

Um total de 40 indivíduos foi inscrito, mas apenas 36 foram elegíveis para participar do estudo e distribuídos aleatoriamente em dois grupos. No total, oito participantes interromperam o estudo (4 em GS e 4 em GP), um em cada grupo por motivos pessoais, três por uso de anti-inflamatórios em GP, três por motivos diversos (viagem, acidente de moto, lesão muscular) em GS. Sendo assim, vinte e oito atletas concluíram o estudo (GS, n = 14; GP, n = 14). Nenhum efeito adverso foi relatado durante o estudo.

Após 23 dias de intervenção, somente GS mostrou aumento do desempenho físico (17,5%, $P < 0,05$, Figura 1). No momento inicial, GP não diferiu de GS quanto às concentrações de MCP-1 (5.58 ± 4.41 vs. 5.08 ± 4.11 pg/ml), IL-10 (1.90 ± 0.46 vs. 2.70 ± 1.38 pg/ml) e IL-6 (5.00 ± 3.86 vs. 5.49 ± 3.42 pg/ml). As concentrações de MCP-1 apresentaram seu pico 24 horas após a meia maratona, sem diferença entre os grupos (Figura 2A). Em contrapartida, ambos os grupos apresentaram aumento nas concentrações de IL-6 e IL-10 logo após a meia maratona (Figura 2B, C). GS mostrou maiores concentrações de IL-10 quando comparado ao GP imediatamente após a meia maratona (190% vs. 116%, $P < 0,05$, Figura 2C). Duas horas após a corrida essas concentrações mantiveram aumentadas quando comparado ao momento inicial e pré-competição em GS (Figura 2C).

Discussão

Para o conhecimento dos autores, este é o primeiro estudo que avaliou o efeito da suplementação crônica de cúrcuma sobre as concentrações de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias. O protocolo utilizado neste estudo foi satisfatório em promover a inflamação muscular, assim como observado em outros estudos com corrida de rua (DAWSON et.al., 2002; NIE et al., 2011, WAŚKIEWICZ et al., 2012). As concentrações de IL-10 aumentaram no GS de forma mais efetiva que em GP, indicando uma ação anti-inflamatória nos participantes que receberam a suplementação de cúrcuma.

Conforme observado em outros estudos, o MCP-1 apresentou maior concentração 24 horas após a realização do protocolo de dano muscular. Esse intervalo representa o tempo necessário para que os monócitos circulantes realizem diapedese e se diferenciem em macrófagos (SCHÖLER, CASTRO, 2014). Este mediador inflamatório é liberado principalmente pelas células endoteliais e macrófagos, aumentando a quimiotaxia de leucócitos, sendo portanto considerado uma citocina pro-inflamatória (IKEDA et al. 2002). Ainda pouco se conhece sobre o efeito do MCP-1 no exercício físico, este foi relatado pela primeira vez no estudo de Suzuki et al. (2003) com corredores de maratona, sugerindo que o MCP-1 possui a função de estimular a fagocitose das células que foram lesadas no local, por meio da ativação dos neutrófilos.

Neste estudo, ambos os grupos aumentaram as concentrações de IL-6 imediatamente após a realização da meia maratona, sem diferença entre grupos. A IL-6 limita o aumento da resposta inflamatória por aumentar a síntese de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10 (PETERSEN, PEDERSEN et al., 2005). Desse modo, a IL-6 possui mais função restaurativa do que inflamatória (SELKOW et al., 2015). Estudo com ratos observou que a curcumina foi capaz de reduzir níveis de TNF- α e IL-6 após exercício excêntrico. Os autores concluíram que a curcumina pode promover a recuperação muscular após exercícios extenuantes (DAVIS et al., 2007).

Por outro lado, a suplementação aguda de curcumina em atletas que praticaram 2h de ciclismo não teve efeito sobre as concentrações de IL-6. Os autores sugeriram que o tamanho da amostra, o tipo e a intensidade do exercício não foram suficientes para demonstrar um possível efeito protetor da curcumina (SCIBRRAS et al. 2015). Neste estudo também não foram observadas reduções nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias após a suplementação com cúrcuma, mesmo com um protocolo de indução de dano muscular adequado. Em humanos,

a curcumina foi eficiente em reduzir as concentrações de IL-6 em indivíduos com doenças inflamatórias crônicas (JAIN et al., 2009; YU et al., 2013), entretanto, as concentrações basais de IL-6 nesses indivíduos foram 3 vezes maior do que a observada nos participantes desse estudo, sugerindo-se que a ação anti-inflamatória da curcumina dependa da presença de um processo inflamatório mais intenso do que o observado em um processo agudo como após a prática de um exercício extenuante.

Em contrapartida, as concentrações de IL-10 foram superiores após a competição no grupo suplementado. A IL-10 é uma citocina imunossupressora que atua depois da resposta inflamatória inicial, reprimindo a atividade das citocinas pró-inflamatórias. A deficiência de IL-10 pode gerar um desequilíbrio entre o mecanismo pró e anti-inflamatório, por outro lado, o aumento de suas concentrações pode acelerar o processo de recuperação da inflamação (MUÑOZ et al., 2008). Estudo *in vitro*, que testou a capacidade anti-inflamatória do extrato de cúrcuma em doenças inflamatórias intestinais, observou aumento significativo de IL-10, sendo fortemente associado com o conteúdo de curcumina (MCCANN et al., 2014). Estudo com camundongos corroboram com estes achados em que a curcumina foi capaz de inibir o recrutamento de leucócitos, IL-1 β , TNF- α e a ativação do NF-kB, assim como aumentar a produção de IL-10 (FATORI et al., 2015). Por outro lado, estudos com humanos que avaliaram a suplementação aguda de curcumina antes do exercício físico não encontraram respostas significativas para diminuição da inflamação, porém verificaram uma diminuição da dor muscular tardia, sugerindo que o protocolo utilizado por eles não foram suficientes para gerar dano muscular (DROBINIC et al. 2014; NICOL et al., 2015).

A suplementação de curcuma foi capaz de aumentar o desempenho físico após 23 dias, mas sem diferença entre os grupos. Uma das hipóteses seria o aumento das concentrações de IL-10, favorecendo a recuperação pós-treino. Outra hipótese é que a curcumina seja capaz de inibir a IL-1 β no sistema nervoso central (DONG et al., 2014), citocina associada com aumento do sono, fadiga, perda de apetite, além de desempenhar um importante papel nas respostas neurais–imunes relacionado ao dano tecidual e infecção (CARMICHAEL et al., 2006). Em ratos, o exercício extenuante eleva as concentrações de IL-1 β no cérebro (CARMICHAEL et al., 2005).

Porem este estudo não pode afirmar estas hipóteses pois não avaliou antes do teste de desempenho a sensação de fadiga e dor muscular, além de não investigar a ação da IL-1 β .

Os resultados indicam que a suplementação da cúrcuma não reduziu as concentrações de citocinas inflamatórias, mas aumentou as de IL-10 após exercício físico extenuante, mecanismo importante para o reparo do dano muscular e também foi capaz de aumentar o

desempenho físico. Assim, os achados sugerem que o potencial anti-inflamatório da curcumina seja via aumento das citocinas anti-inflamatórias e não por meio da redução das citocinas pró-inflamatórias, o que pode melhorar ou até acelerar a recuperação muscular.

Agradecimentos

Ao laboratório Laboratório de Fisiologia Celular e exercício (LAFICE) de Universidade Paulista (UNESP), campus de Educação Física em Presidente Prudente (SP), pela realização das análises das citocinas. Aos pesquisadores Ronyson, Alcides, Marina, Tatyane Leticia que ajudaram na coleta de dados.

Conflitos de interesse

Declaramos que este estudo não possui nenhum conflito de interesse.

Financiamento

Este estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil (n° 44023/2013-6).

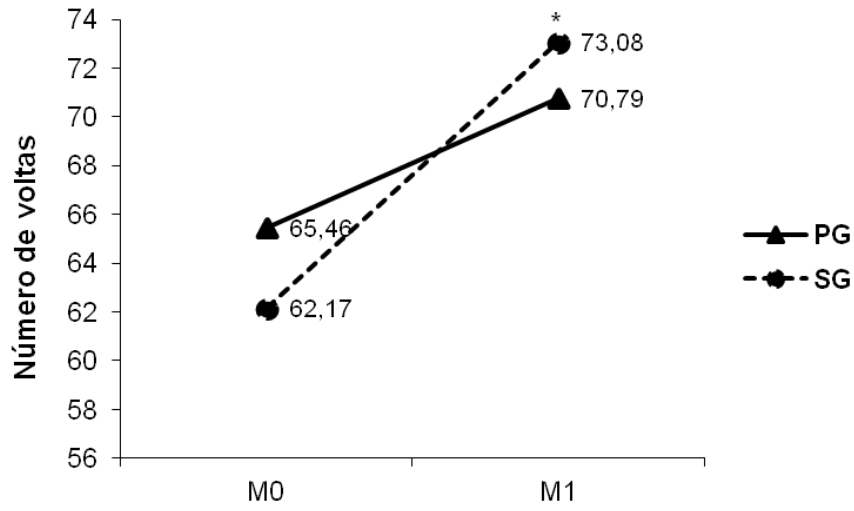


Figura 1. Efeito da suplementação de curcuma sobre o desempenho físico. * $P < 0,05$ quando comparador com M0 no grupo suplementado. PG: grupo placebo; SG: grupo suplementado.

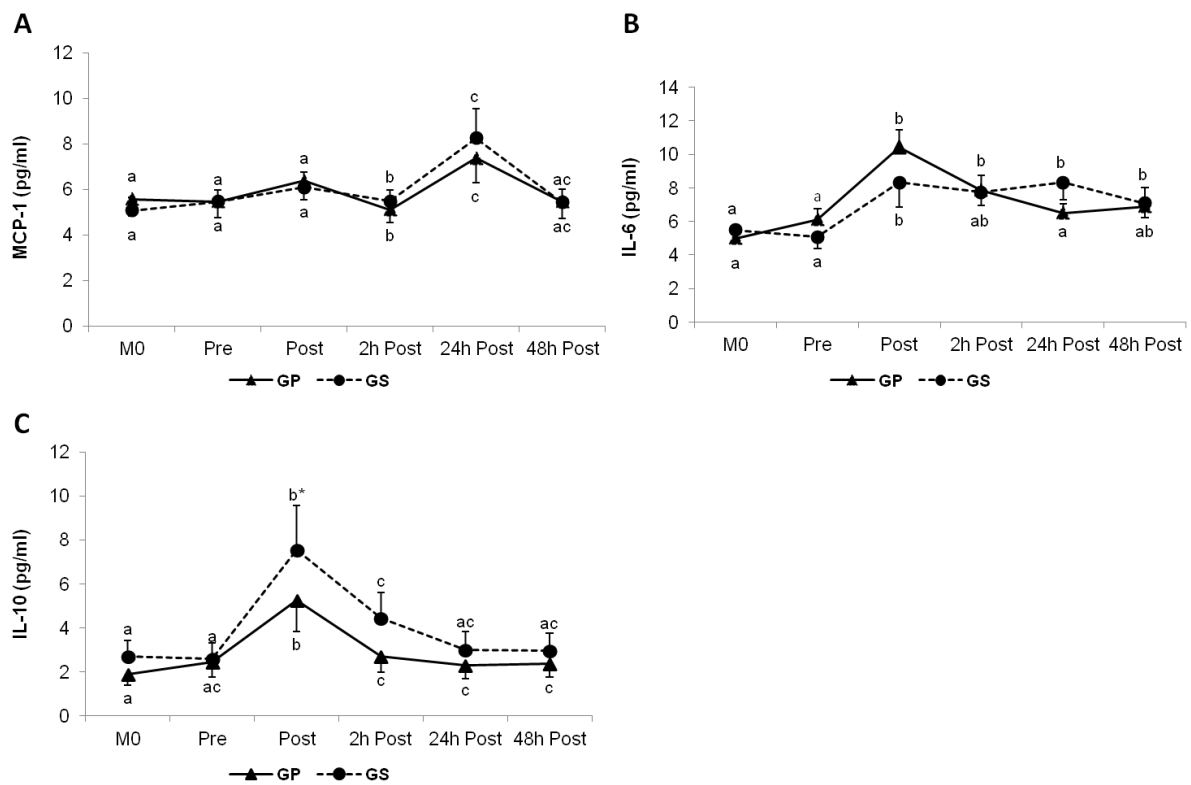


Figura 2: Efeito da meia maratona e da suplementação sobre as concentrações proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) (A); interleucina-6 (IL-6) (B); interleucina-10 (IL-10) (C). Letras diferentes significam diferença estatística ($P < 0,05$) entre os momentos no mesmo grupo. * $P < 0,05$ significa diferença estatística entre os grupos. GP: grupo placebo; GS: grupo suplementado. M0: inicial antes da intervenção; Pré: antes da meia maratona; Post: logo após a meia maratona; 2h Post: 2 horas após a meia maratona; 24h Post: 24 horas após a corrida; 48h Post: 48 horas após a meia maratona.

Referências

- CHIBA, T.; ISHIGURO, H.; MATSUMOTO, S.; TSUJIKO, K.; TSUJIKO, K.; HASHIGUCHI, M.; SASAKI, H.; OTSUKA, Y.; IMAIZUMI, A.; KANAI, M. Escalating dose and pharmacokinetic study of nanoparticles curcumin, a potential anticancer agent with improved bioavailability, in healthy human volunteers. **Cancer Chemother Pharmacol**, Berlin, v.69 n. p. 65-70, 2012
- CARMICHAEL M.D, DAVIS J.M, MURPHY E.A, BROWN A.S, CARSON J.A, MAYER E, GHAFFAR A. Recovery of running performance following muscle-damaging exercise: relationship to brain IL-1beta. **Brain Behav Immun**, v. 19, p. 445-452, 2005.
- CARMICHAEL M.D, DAVIS J.M, MURPHY E.A, BROWN A.S, CARSON J.A, MAYER E, GHAFFAR A Role of brain IL-1beta on fatigue after exercise-induced muscle damage. **American Journal Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 29, p. 1344–1348, 2006
- DAVIS, J.M.; MURPHY, E.A.; CARMICHAEL, M.D. et al. Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage. **American Journal Physiology endocrinology and metabolism**. Bethesda, v.292, n.6, p. 168-173, 2007
- DAWSON, B.; HENRY, G.J.; GOODMAN, C.; GILLAM, I.; BEILBY, J.R.; CHING, S.; FABIAN, V.; DASIG D.; MORLING, P.; KAKULUS, B.A. Effect of Vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a 21 km run. **International Journal of Sports Medicine**, v. 23, n. 1, p. 10-15, 2002.
- DONG H.J., SHANG C.Z., PENG D.W., XU J. , XU P.X., ZHAN G., WANG P. Curcumin attenuates ischemia-like injury induced IL-1 β elevation in brain microvascular endothelial cells via inhibiting MAPK pathways and nuclear factor- κ B activation. **Neurological Sciences**, v. 35, n.9, p. 1387-1392, 2014.
- DROBNIC, F. RIERA, J.; APPENDINO, G.; TOQNI S.; FRANCESCHI, F.; VALLE, X.; PONS, A.; TUR J.; Reduction of delayed onset muscle soreness by a novel curcumin delivery system (Meriva®): a randomised, placebo-controlled trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**. Woodland Park, v. 11, n. p. 11-31, 2014.
- FATTORI, V.; RIBEIRO, F.A.P; BORGHI, S.M; ALVES-FILHO, J.C.; CUNHA, T.M.; CUNHA, F.Q; VERRI, W.A.; Curcumin inhibits superoxide anion-induced pain-like behavior and leukocyte recruitment by increasing Nrf2 expression and reducing NF- κ B activation. **Inflammation Research**, v. 64, n. 12, p. 993-1003, 2015.
- HARMS-RINGDAHL, M., JENSSEN, D., HAGHDOOST, S. Tomato juice intake suppressed serum concentration of 8-OHDG after extensive physical activity. **Nutrition Journal**, Londres, v. 11, n.1, p.2-5, 2012.
- HATCHER, H.; PLANALP, R.; CHOB, J.; TORTI, F. M.; TORTI, S. V. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 65, n. 11, p. 1631-1652, 2008

HUANG, W.C., CHIU, W.C.; CHUANG, H.L.; TANG D.W., LEE Z.M, WEI L., CHEN, F.A., HUANG, C.C. Effect of curcumin supplementation on physiological fatigue and physical performance in mice. **Nutrients**, v.7, n.2, p. 905-921, 2015.

JACKSON MJ; VASILAKI A.; MCARDLE A. Cellular mechanisms underlying oxidative stress in human exercise. **Free radical biology medicine**, v. 18, n.16, p 45-52, 2016.

JAIN, S.K.; RAINS, J.; CROAD, J.; LARSON, B.; JONES, K.; Curcumin supplement reduces the TNF-alpha, IL-6, IL-8 and MCP-1 secretion by monocytes in culture treated with high glucose and blood levels of TNF-alpha, IL-6, MCP-1, glucose and hemoglobin glycosylated in diabetic rats. **Antioxid Redox Signal**, v. 11, n. 2, p. 241-249, 2009.

CABRERA C.G., NEZE A.C, SANTANGELO G., PALLARDO, F.P., SASTRE, J.; Oxidative stress in marathon runners: interest of antioxidant supplementation. **British Journal of Nutrition**, v. 96, Suppl. 1, p. 31-33, 2006.

McCANN, J.M.; JOHNSTON, S.; REILLY, K.; XUEJING, H.; BURGESS, E.J.; PERRY, N.; ROY, C.N.; The Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Extract the functionality Solute carrier protein 22 A4 (SLC22A4) and interleukin-10 (IL-10) variants associated with IBD. **Nutrientes**, v. 6, n. 10, p. 4178-4190, 2014.

MUÑOZ, F.S.; LOPEZ, A.D.; FURSHO, J.K.Y.; Role of cytokines in inflammatory bowel disease. **World Journal Gastroenterol**, v. 14, n. 27, p. 4280-4288, 2008.

NIE, J.; TONG, K.T.; FU, H. F.G.; LIN, H.; Esting and post-exercise serum biomarkers of cardiac and skeletal muscle damage in adolescent runners, **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 21, n.5, p. 625-629, 2011.

PALACIOS, G.; CHAMIZO, P.R.; PALACIOS, N.; SANCHEZ, N.B.; AZNAR, S.; CROSS, G.M. Biomarkes of phisical activity and exercise. **Nutricion Hospitalaria**, Madrid, v.31, sup.3, p. 237-241, 2015.

SCIBERRAS, J.N.; GALLOWAY, S.D.R; FENECH, A.; CRECH, G.; FARRUGIA, G.; DUCA, D.; MIFSUD, J. The effect of supplementation turmeric (curcumin) on the response of cytokines and inflammatory markers following 2 hours of endurance cycling. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 12, n. 5, 2015.

SMITH L, L.; MCKUNE A.J.; SEMPLE S.J; SIBANDA, E; STEEL H, ANDERSON R Changes in serum cytokines after repeated bouts of downhill running. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism** V. 32, N. 2, P. 905-921, 2007.

SUZUKI K, NAKAJI S, YAMADA M, LIU Q, KURAKAKE S, OKAMURA N, KUMAE T, UMEDA T, SUGAWARA K. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. **Medicina science exercise**, v.35, n. 2, p. 348-355, 2003

TAKAHASHI, M.; SUZUKI K.; KIM H. K.; OTSUKA Y.; IMAIZUMI A.; MIYASHITA, M.; SAKAMOTO, S.; Effects of Curcumin Supplementation on Exercise Induced Oxidative Stress in Humans. **International Journal of Sports Medicine**, Germany, v.5, n.5, p. 469-475, 2013.

WAGNER, K.P.; REICHHOLD, S.; NEUBAUER, O.; Impact of endurance and ultraendurance exercise on DNA damage. **Annals of the New York Academy of Sciences**, Nova Yorke, v.1229, p.115-123, 2011.

WASKIEWICZ, Z.; KLAPCINSKA, B.; KREPA, E.S, CZUBA, M.; KEMPA, K.; KIMSA, E.; GERASIMU, D. Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. **European journal of applied physiology**, v. 112, n. 5, p. 1679-1688, 2012.

YU.C.C.; TSAI, L.L.; WANG, M.L.; YU, C.H.; LO, W.L.; CHANG, G.Y.; CHIOU, S.H.; miR 145 targets the SOX9 / ADAM-17 axis to inhibit tumor initiating cells and IL-6 mediated paracrine effects in head and neck cancer. **Cancer Research**, v. 73, n. 11, p. 3425-3440, 2013.

ZHOU, H.; BEEVERS, C.S.; HUANG, S. The targets of curcumin. **Current Drug Targets. Hilversun**, v.12, n.3, p.332-347, 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O interesse pelo tema desta dissertação se deu em virtude da composição nutricional da *curcuma longa L.* e seus efeitos in vitro e in vivo, que demonstram terem funções anti-inflamatória e antioxidantes. Um ponto positivo desta pesquisa é a intervenção com uma substância 100% natural de baixo custo financeiro e acessível a toda população.

Desta forma, buscamos investigar e compreender o efeito da curcuma no campo esportivo, uma vez que o exercício físico extenuante causa aumento do estresse oxidativo seguido por lesões musculares que podem desenvolver para uma lesão crônica, afastando os indivíduos do treinamento, diminuindo o desempenho e algumas vezes até impedindo que pratiquem novamente este tipo de exercício.

Neste estudo pôde-se observar que a *Cúrcuma Longa L.* não foi capaz de diminuir os marcadores de dano muscular e inflamatórios. Todavia, a cúrcuma aumentou a concentração de IL-10, citocina anti-inflamatória, reduziu a dor muscular de início tardio e melhorou o desempenho dos atletas.

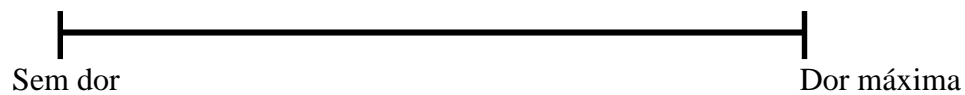
Este resultados estimulam a continuação de mais pesquisas para compreender melhor os mecanismos de ação da curcuma, visto que esta é uma substância recentemente estuda no campo esportivo.

Neste estudo ainda serão analisados os efeitos antioxidantes: dano ao DNA pelo método cometa e atividade das enzimas antioxidantes.

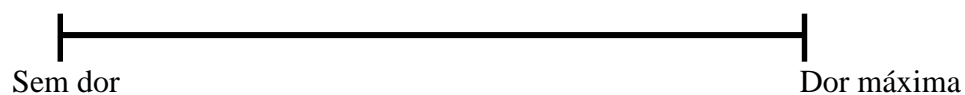
APÊNDICES

APENDICE A-**QUESTIONÁRIO DE DOR**

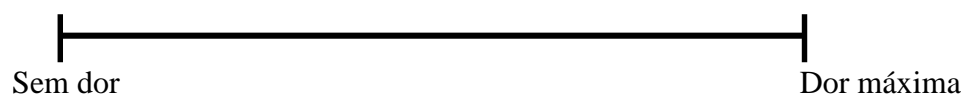
Escala Visual Analógica - Alongamento – Quadríceps

-----
DOBRE

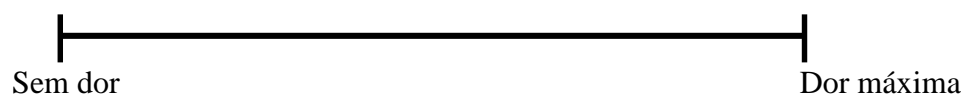
Escala Visual Analógica - Palpação - Quadríceps

-----
DOBRE

Escala Visual Analógica - Alongamento - Bíceps Femoral



Escala Visual Analógica - Palpação - Bíceps Femoral



APENDICE B- TCLE-**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado para participar, como voluntário em uma pesquisa. Meu nome é Flávia Rasmussen Faria, sou a pesquisadora responsável, graduanda em Nutrição. Após ler com atenção este documento e ser esclarecido sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine em todas as folhas e ao final deste documento, que está em duas vias e também será assinado por mim, pesquisadora, em todas as folhas. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato a cobrar com os pesquisadores responsáveis, Dr. João Felipe Mota nos telefones: (62) 3209-6270 e Flávia (62) 9993-8543. Em caso de dúvidas sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, nos telefones: (62) 3521-1215 ou no endereço: UFG. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES QUE VOCÊ PRECISA SABER SOBRE A PESQUISA:

- Título Efeito de diferentes dosagens de suplementação da cúrcuma longa I sobre as concentrações plasmáticas de curcumina em humanos.

Tatyanne Letícia Nogueira Gomes- Graduanda em Nutrição (UFG)

João Felipe Mota- Professor titular da FANUT Faculdade de nutrição da UFG, e coordenador do programa de pós-graduação em Nutrição e Saúde.

O objetivo da pesquisa é avaliar o efeito de diferentes dosagens de suplementação da Curcuma Longa L sobre as concentrações plasmáticas de curcumina em humanos.

O estudo constará com 3 semanas de duração. Cada voluntário irá ser suplementado com uma dosagem de cúrcuma longa (açafraão) , as dosagens estão divididas em 1500 mg , 3000 mg e 6000mg. Em três dias de duração com um intervalo de uma semana (7 dias de uma dosagem para outra), os participantes e pesquisadores não saberão qual das cápsulas será administrada, todos serão instruídos a ingerirem a cápsula juntamente com o jejum de 8 horas este permanecerá no local (clínica de

pesquisa UFG) por duas horas, onde será colocado um acesso abocate para coleta de sangue. A população do estudo será composta por 15 indivíduos saudáveis do sexo masculino, com idade entre 18 e 40 anos.

A concordância em participar do estudo deverão assinar este termo de consentimento livre e esclarecido. A coleta de dados ocorrerá no Laboratório de Avaliação Nutricional da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás (UFG) e na clínica de pesquisa (UFG).

Não foram identificados riscos em pacientes submetidos à administração de Curcuma Longa L. em procedimentos de pesquisas anteriores. Podem ocorrer hematomas no braço e ficar um pouco dolorida devido à coleta de sangue, mas sem nenhum dano a saúde do participante.

Será mantido o anonimato e os dados serão analisados em grupo e apenas para fins de pesquisa. Não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação financeira pela sua participação. Não haverá nenhum custo adicional pela sua participação no estudo. O participante que desistir de participar da pesquisa poderá retirar seu consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade.

Nome e Assinatura do pesquisador _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO DA PESQUISA

Eu, _____, RG _____ abaixo assinado, concordo em participar do estudo EFEITO DE DIFERENTES DOSAGENS DE SUPLEMENTAÇÃO DA CURCUMA LONGA L SOBRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE CURCUMINA EM HUMANOS, sob a responsabilidade do Dr. João Felipe Mota como sujeito voluntário. Fui devidamente informado e esclarecido pela pesquisadora Flávia Rasmussen; sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

Assinatura Dactiloscópica:

APENDICE C-TCLE
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar, como voluntário em uma pesquisa. Meu nome é Flávia Rasmussen Faria, sou a pesquisadora responsável e minha área de atuação é Nutrição e Saúde. Após ler com atenção este documento e ser esclarecido sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine em todas as folhas e ao final deste documento, que está em duas vias e também será assinado por mim, pesquisadora, em todas as folhas. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato a cobrar com os pesquisadores responsáveis, Dr. João Felipe Mota nos telefones: (62) 3209-6270 e Flávia Rasmussen Faria: (62) 9993-8543. Em caso de dúvidas sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, nos telefones: (62) 3521-1215 ou no endereço: UFG. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás.

**INFORMAÇÕES IMPORTANTES QUE VOCÊ PRECISA SABER SOBRE A
PESQUISA:**

Título: Efeito da suplementação de *Curcuma Longa L.* sobre marcadores de estresse oxidativo e inflamação após o exercício de endurance

Informações sobre quem está aplicando o termo de consentimento: Flávia Rasmussen Faria – professora de Educação Física. Mestranda em Nutrição e Saúde; Esp. Em Fisiologia do Exercício. Fone: (62) 9993-8543

Objetivo da pesquisa é Avaliar os efeitos da suplementação de *Curcuma Longa L.* sobre marcadores de estresse oxidativo e inflamação após o exercício de endurance. O estudo constará de um mês de duração com 7 momentos de avaliações, sendo o primeiro momento no início do mês e outros momentos no meio e no final do mês. Todos os indivíduos serão orientados sobre a pesquisa e aqueles que manifestarem concordância em participar do estudo deverão assinar este termo de consentimento livre e esclarecido. A coleta de dados ocorrerá no Laboratório de Avaliação Nutricional da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás

(UFG) e no Laboratório de Fisiologia, Nutrição e Saúde (LABFISIONUT) da Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Goiás (UFG). A população do estudo será composta por 40 indivíduos saudáveis do sexo masculino, com idade entre 18 e 45 anos, que praticam regularmente corrida. Não poderão participar da pesquisa os participantes que não realizarem todas as avaliações, os que participam de um programa de restrição alimentar, que consomem bebidas alcoólicas e são fumantes, portadores de pneumopatia e cardiopatias e em uso de suplementos nutricionais.

Os participantes serão divididos aleatoriamente em Grupo Placebo que receberão cápsulas contendo celulose e Grupo Suplementado que receberão cápsulas contendo *Curcuma Longa L.* Os participantes e pesquisadores não saberão qual das cápsulas será administrada. Todos serão instruídos a ingerirem duas cápsula com o almoço e uma cápsula durante o jantar e também serão orientados a seguirem uma dieta padrão. A administração das cápsulas será acompanhada semanalmente por telefone. As avaliações serão constituídas por avaliação da ingestão alimentar por meio de recordatório 24 horas, avaliação da composição utilizando o método de absorciometria radiológica de feixe duplo (DEXA), estimativa do consumo de oxigênio máximo (VO_2max) mediante realização de um teste de esforço físico, questionário de dor, teste de perda de força muscular, exames laboratoriais, e realização da prova de meia maratona.

Embora ainda não haja consenso sobre os benefícios dos suplementos antioxidantes na prevenção de lesão muscular, esse estudo suporta a ideia de que a *Curcuma Longa L.* induz eventos celulares adaptativos que reduzem os estados oxidativo e inflamatórios podendo contribuir para reparação e recuperação da função muscular.

Não foram identificados riscos em pacientes submetidos à administração de *Curcuma Longa L.* em procedimentos de pesquisas anteriores. Será mantido o anonimato e os dados serão analisados em grupo e apenas para fins de pesquisa. Não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação financeira pela sua participação. Não haverá nenhum custo adicional pela sua participação no estudo. participante que desistir de participar da pesquisa poderá retirar seu consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade.

Nome e Assinatura do pesquisador _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO DA PESQUISA

Eu, _____, RG _____ abaixo assinado, concordo em participar do estudo Efeito da suplementação de *Curcuma Longa L.* sobre marcadores de estresse oxidativo e inflamação após o exercício de endurance, sob a responsabilidade do Dr. João Felipe Mota como sujeito voluntário. Fui devidamente informado e esclarecido pela pesquisadora Flávia Rasmussen Faria sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

Assinatura Dactiloscópica:

Nome e assinatura do Pesquisador Responsável

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

ANEXO

ANEXO A

DISPONIBILIDADE EFETIVA DE INFRAESTRUTURA E APOIO TÉCNICO

A *Curcuma Longa L.* será fornecida pela Cooperativa dos Produtores de Açafrão de Mara Rosa, Goiás. A cooperativa foi criada em 2003, com a finalidade de organizar e propiciar o caráter empresarial da comunidade produtora de açafrão do município de Mara Rosa, predominantemente integrantes do sistema de agricultura familiar.

A determinação do teor curcumina, foi realizado no Laboratório de Biofarmácia e Farmacocinética (BioPk), na Faculdade de Farmácia UFG)

A definição da curva e a extração de curcumina em plasma por meio de HPLC, será realizado pelo BioPk na Faculdade de Farmácia da UFG.

As avaliações antropométricas foram realizadas, no Laboratório de Avaliação Nutricional e esportiva (LABINCE) da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Goiás.

O teste de Léger foi realizado ao lado da pista de corrida Ricardo Paranhos; o teste de 1 RM, foi realizado na academia Vila Fit, localizada no setor Santa Genoveva.

A corrida de meia maratona de Goiânia foi organizada pela Rancker eventos e realizada pela organização Jaime câmera, com largada no estacionamento do shopping Flamboyant.

As análises de, IL-6, IL-10 e MCP-1, foram realizados por ELISA; pelo laboratório de fisiologia celular e exercício (LAFICE), localizado na Universidade Paulista (UNESP) campus de Educação Física em Presidente Prudente (SP).

As concentrações de creatina kinase e lactato desidrogenase, aspartato amino transferase e alamina aminotransferase foram determinadas no laboratório de Goiânia.

Os equipamentos de musculação no dia da prova foram fornecidos pela academia Vila Ftnes.

ANEXO B IMAGENS DURANTE O ESTUDO



Imagem 1. Pesagem em balança analítica, do padrão VETEC- Curcumina



Imagem 2. Validação do método de extração e calibração da curva de curcumina, no BioPk (Laboratório de Biofarmácia & Farmacocinética)



Imagem 3. Coleta de sangue/ dia da meia maratona de Goiânia, trailer cedido pela unimed/ Goiânia.



Imagem 4- Equipe LABINCE, no dia da prova de meia maratona



Imagem 5- Largada da Prova Meia Maratona de Goiânia.



Imagem 6- Durante o percurso da prova.