

Universidade Federal de Ouro Preto

Escola de Nutrição

Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição
PPGSN

Dissertação

**Efeito da Formulação oral
HP β CD-Angiotensina-(1-7) na
lesão muscular e rendimento
físico de atletas de Mountain
bike: um estudo crossover
duplo-cego**

SAMARA SILVA DE MOURA

2020

Ouro Preto



UFOP

Samara Silva de Moura

Efeito da Formulação oral HP β CD-Angiotensina-(1-7) na lesão muscular e rendimento físico de atletas de Mountain bike: um estudo crossover duplo-cego

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *strictu sensu* em Saúde e Nutrição, da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial a obtenção do título de Mestre em Saúde e Nutrição.

Área de concentração: Bioquímica e Fisiopatologia da Nutrição

Orientador: Profa Dra. Lenice Kappes Becker – Escola de Educação Física da UFOP

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daisy Motta Santos – Universidade Federal de Minas Gerais.

**Ouro Preto – Minas Gerais
2020**

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

M929e Moura, Samara Silva De .

Efeito da Formulação oral HPβCD-Angiotensina-(1-7) na lesão muscular e rendimento físico de atletas de Mountain bike: um estudo crossover duplo-cego. [manuscrito] / Samara Silva De Moura. - 2020. 60 f.: il.: gráf..

Orientadora: Profa. Dra. Lenice Kappes Becker.

Coorientadora: Dra. Daisy Santos-Motta.

Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição.

Área de Concentração: Saúde e Nutrição.

1. Mountain bikes. 2. Ciclistas. 3. Angiotensina-(1-7). 4. Exercícios físicos. I. Becker, Lenice Kappes. II. Santos-Motta, Daisy. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 612.766.1

Bibliotecário(a) Responsável: Sonia Marcelino - CRB6/2247



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE NUTRICAÇÃO
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E
NUTRICAÇÃO



FOLHA DE APROVAÇÃO

Samara Silva de Moura

Efeito da Formulação oral HPβCD-Angiotensina-(1-7) na lesão muscular e rendimento físico de atletas de Mountain bike: um estudo crossover duplo-cego

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Mestre

Aprovada em 04 de setembro de 2020

Membros da banca

Dra. Lenice Kappes Becker Oliveira - Orientadora (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dra. Daisy Motta Santos - Coorientadora (Universidade Federal de Minas Gerais)
Dr. Reginal Gonçalves (Universidade Federal de Minas Gerais)
Dra. Fernanda Guimarães Drummond e Silva (Universidade Federal de Ouro Preto)

Lenice Kappes Becker Oliveira, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 25/01/2021



Documento assinado eletronicamente por **Lenice Kappes Becker Oliveira, VICE-DIRETOR(A) DA ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA**, em 25/01/2021, às 14:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0127091** e o código CRC **682998DF**.

Dedicatória

Aos meus pais e a meus irmãos, vocês são o tesouro mais precioso que Deus me deu. Ao meu namorado, pelo incentivo constante. Aos meus amigos, pelo apoio e encorajamento.

Agradeço especialmente,

A Deus, porque dEle e por Ele são todas as coisas! Obrigada Senhor por permitir que esse sonho se realizasse, desde o primeiro dia que adentrei a Universidade Federal de Ouro Preto e visualizei e desejei esse momento. Obrigada por TANTO e por TUDO.

A minha querida família, vocês são meu incentivo diário, alicerce e porto seguro, o melhor presente de Deus, amo infinitamente vocês. Estendo aqui meus agradecimentos à **família do Marlon**, obrigado por todo cuidado e acolhimento em Ouro Preto, vocês fazem parte dessa conquista.

A Marlon, por ser o melhor namorado do mundo e por sempre me incentivar! Obrigada! Você é o melhor companheiro de vida, te amo!

A minha orientadora querida, Lenice Kappes Becker, você é uma pessoa íntegra, ética, disciplinada e competente naquilo que faz. Obrigada pela oportunidade e por todos os ensinamentos, sou muito grata a você. **À minha co-orientadora Daisy-Motta**, por contribuir com meu aprendizado e base científica.

Às amigas, Ingrid, Janaína, Raíssa, Hillary, Any e a todas queridas amigas da **República Faz de Conta**, a amizade de vocês foi fundamental para vencer todo esse desafio.

Aos Companheiros de Laboratório de Fisiologia do Exercício – LABFE, pelos ensinamentos, momentos de descontração, coletas e experimentos, vocês tornaram o trabalho menos árduo. Agradeço especialmente ao **Francisco (Chico)**, que, com muita paciência (mais ou menos, rs), ajudou incansavelmente durante este trabalho. Obrigada por toda a ajuda e companheirismo, gosto muito de ti.

Aos voluntários participantes da pesquisa, sem vocês o estudo não aconteceria. Gratidão.

Agradeço...

A Universidade Federal de Ouro Preto, por proporcionar desenvolvimento científico, profissional e pessoal, em especial ao **Programa de Pós Graduação em Saúde e Nutrição** e à **Secretária**, por todo suporte.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

Aproveito para agradecer aos professores que participaram da minha formação ao longo da Graduação. Em especial, agradeço a professora **Siomara Silva**, que forjou em mim boa parte do que sou hoje. Agradeço ao professor **Albená Nunes**, obrigada pela sua torcida, carinho e ensinamentos.

Aos funcionários da Escola de Educação Física, em especial **Roberto, Ricardo, Tico e Sérgio**.

Finalmente, agradeço aos membros da Banca de Avaliação desta Dissertação, aos Professores titulares: **Fernanda Drummond e Reginaldo Gonçalves**, e aos professores suplentes: **Marco Fabrício e Emerson Cruz**, obrigada pelo aceite do convite e disponibilidade.

Mas, como está escrito: Nem olhos viram, nem ouvidos ouviram, nem jamais penetrou em coração humano o que Deus tem preparado para aqueles que o amam.

1 Coríntios 2:9

RESUMO: Constantemente, pesquisas buscam associação de novos suplementos no rendimento esportivo. Estudos prévios em animais e humanos sugerem que a formulação oral HP β CD-Angiotensina-(1-7) poderia aumentar o rendimento físico, visto que induz a liberação de óxido nítrico e potencializa a ação da bradicinina. Além disso, a Ang-(1-7) pode estar envolvida na utilização de ácidos graxos não esterificados liberados dos adipócitos, o que possivelmente pode contribuir para maior β -oxidação, poupando a glicose hepática e muscular, contribuindo, dessa forma, para uma menor variação de glicose plasmática, sugerindo uma melhoria global na eficiência metabólica. A premissa deste estudo foi investigar o efeito da suplementação oral HP β CD-Angiotensina-(1-7) no rendimento esportivo de atletas de *mountain bike* (MTB). Participaram do estudo 10 atletas de MTB da região de Ouro Preto/MG, envolvidos em seus programas de treinamento por pelo menos um ano. Os ensaios experimentais foram delineados de maneira cruzada, dupla-cega, randomizada, separados por 7 dias. A administração oral de HP β CD-Ang-(1-7) (2mg) e HP β CD-Placebo em cápsulas, 3 horas antes dos testes. Para investigar os efeitos da formulação HP β CD-Ang-(1-7) em parâmetros cardiovasculares, foram avaliadas a frequência cardíaca e a pressão arterial em repouso e no pico de esforço máximo. O rendimento físico foi avaliado por meio de um teste de contrarrelógio (TT20km) em um cicloergométrico de pernas. Medidas perceptivas foram consideradas: percepção subjetiva de esforço (PSE) foi registrada a cada 2 km, durante os 20km e, percepção subjetiva de esforço da sessão de teste (sPSE). Amostras de sangue foram colhidas pré, pós, 24 e 48h após os testes físicos, para avaliar os parâmetros bioquímicos: lactato, ácidos graxos não esterificados (AGNEs), glicemia e creatina quinase (CK). Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão da média e o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. Não foram observadas diferenças significativas para as variáveis de rendimento físico, medidas de percepção do esforço físico: PSE e sPSE da sessão e variáveis bioquímicas (AGNEs, lactato, glicose e CK). Para as variáveis cardiovasculares, os resultados exibem uma diferença significativa na PAM ($p=0,004$) e PAD ($p=0,02$) de repouso, o mesmo não foi observado para PAS e FC de repouso e máxima. A suplementação com Ang-(1-7) não melhorou o desempenho físico de atletas de MTB em um protocolo de contrarrelógio.

Palavras-chave: Mountain bikes; ciclistas; Angiotensina-(1-7); exercícios físicos.

ABSTRACT: Research is constantly looking for an association of new supplements in sports performance. Previous studies in animals and humans suggest that the oral formulation HP β CD-Angiotensin- (1-7) could increase physical performance, since it induces the release of nitric oxide and enhances the action of bradykinin. In addition, Ang- (1-7) may be involved in the use of non-esterified fatty acids released from adipocytes, which may possibly contribute to greater β -oxidation, saving liver and muscle glucose, thus contributing to a less variation in plasma glucose, suggesting an overall improvement in metabolic efficiency. The premise of this study was to investigate the effect of oral supplementation HP β CD-Angiotensin- (1-7) on the sports performance of mountain bike athletes (MTB). Ten MTB athletes from the Ouro Preto / MG region participated in the study, involved in their training programs for at least one year. The experimental trials were cross-sectional, double-blind, randomized, separated by 7 days. Oral administration of HP β CD-Ang- (1-7) (2mg) and HP β CD-Placebo in capsules, 3 hours before the tests. To investigate the effects of the HP β CD-Ang- (1-7) formulation on cardiovascular parameters, heart rate and blood pressure at rest and at peak peak effort were evaluated. Physical performance was assessed by means of a time trial test (TT20km) on a leg cycle. Perceptual measures were considered: subjective perception of effort (PSE) was recorded every 2 km, for 20 km and subjective perception of effort in the test session (sPSE). Blood samples were collected pre, post, 24 and 48 hours after the physical tests, to evaluate the biochemical parameters: lactate, non-esterified fatty acids (AGNEs), glycemia and creatine kinase (CK). The data were expressed as mean \pm standard deviation from the mean and the level of significance adopted was $p < 0.05$. There were no significant differences for physical performance variables, measures of perception of physical effort: PSE and PSE of the session and biochemical variables (AGNEs, lactate, glucose and CK). For cardiovascular variables, the results show a significant difference in MAP ($p = 0.004$) and DBP ($p = 0.02$) at rest, the same was not observed for SBP and HR at rest and maximum. Supplementation with Ang- (1-7) did not improve the physical performance of MTB athletes in a time trial protocol.

Keywords: Mountain bikes; cyclists; Angiotensin-(1-7); physical exercises.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Delineamento Experimental. Percepção subjetiva de esforço (PSE); percepção subjetiva de esforço da sessão de teste de contrarrelógio (sPSR). Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 2 A) Pressão arterial diastólica (PAD) de repouso; ($p=0,02$; teste *t* pareado) e pico de esforço ($p=0,32$; teste *t* pareado) nas condições tratado (H β CD-Ang- (1-7) e (HP β -CD-Placebo). B) Pressão arterial sistólica (PAS) de repouso ($p=0,06$; teste *t* pareado) e no pico de esforço ($p=0,29$; teste Wilcoxon-Mann-Whitney) nas condições tratado (H β CD-Ang- (1-7)) e (HP β -CD-Placebo) C) Pressão arterial média (PAM) de repouso ($p=0,004$; teste *t* pareado) e no pico de esforço ($p=0,87$; teste *t* pareado) nas condições tratado (H β CD-Ang- (1-7)) e (HP β -CD-Placebo) D) Frequência cardíaca (FC) de repouso ($p=0,18$; teste *t* pareado) e no pico de esforço ($p=0,06$; teste *t* pareado), nas condições tratado (H β CD-Ang- (1-7) e (HP β -CD-Placebo). Bpm: batimentos por minuto. N=10 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3. Contrarrelógio (TT20km) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo ($p=0,76$; teste Wilcoxon-Mann-Whitney). Quilômetros (km). Cada linha representa um. N=10. Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 4. A) Valores do watt máximo (W) produzido no contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. $p=0,16$; teste *t* pareado B) Valores do watt médio (W) produzido no teste de contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. $p=0,18$; teste *t* pareado C) Valores médios da rotação por minuto (RPM) produzido no contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. $p=0,18$; teste *t* pareado D) Valores médios da velocidade por hora (km/h) produzido no TT20km contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. $p=0,23$; teste *t* pareado. Os valores foram apresentados em Média \pm desvio padrão (DP). Sem diferenças estatísticas para teste *t* pareado. Quilômetros (km). N= 9 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 5. A) Escala de Percepção Subjetiva de Esforço (PSE) a cada 2km no teste de contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. B) Percepção Subjetiva de Esforço da Sessão (sPSE) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. ($p=0,38$). Centímetros (cm); quilômetros (km). Sem diferenças estatísticas para teste *t* pareado e regressão em linha reta. N= 10 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6. A) Valores do tempo médio em milissegundos (ms) produzido na Tarefa de Stroop pré ($p=0,42$) e pós ($p=0,43$) teste na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo; teste *t* pareado B) unidade arbitrária (u/a) erro de tecla na Tarefa de Stroop pré ($p=0,60$) e pós ($p=0,53$) teste na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo; teste *t* pareado. C) unidade arbitrária (u/a) erro de tempo na Tarefa de Stroop pré ($p=0,42$) e pós ($p=0,99$) teste na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo; Wilcoxon-Mann-Whitney. N= 9 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 7. A) Ácidos graxos não esterificados (AGNEs) em milimoles por litro (mmol/L) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. pré :p=0,87; pós p=0,28. B) Creatina quinase em unidade por litro (U/L) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo: pré :p=0,74; pós p=0,24; 24h p=0,95 e 48h p=0,49 C) Glicose plasmática em miligrama por decilitro (mg/dL) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. (intergrupos: pré: p=0,69; pós: p=0,72) (intragrupos: HP β CD-Ang-(1-7): p=0,019; HP β CD-Placebo: p=0,0018) D) lactato plasmático em milimoles por litro (mmol/L) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo . (intergrupos: pré: p=0,11; pós: p=0,44) (intragrupos: HP β CD-Ang-(1-7): p=0,0001; HP β CD-Placebo: p=0,0001). Sem diferenças estatísticas para análises em parâmetros bioquímicos em teste t pareado. N= 10 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização da Amostra	28
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGNEs - Ácidos Graxos não Esterificados

Ang I - Angiotensina I

Ang II - Angiotensina II

Ang-(1-7) - Angiotensina-(1-7)

BK - Bradicinina

CK - Creatina Quinase

AT1 - Receptores Angiotensinérgico do Tipo 1

ECA - Enzima Conversora de Angiotensina I

ECA II - Enzima Conversora de Angiotensina II

FC - Frequência Cardíaca

HP β -CD - Hidroxipropil Beta Ciclodextrina

MTB - Mountain Bike

ON - Óxido Nítrico

PSE - Percepção Subjetiva de Esforço

sPSE - Percepção Subjetiva de Esforço da Sessão de Treinamento

PSR – Percepção Subjetiva de Recuperação

PAD - Pressão Arterial Diastólica

PAS - Pressão Arterial Sistólica

SRA - Sistema Renina Angiotensina

TT20km – traduzido do inglês *time trial* para Contrarrelógio

NA - Noradrenalina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA	14
2.2 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA E RENDIMENTO FÍSICO.....	15
2.4 ANGIOTENSINA-(1-7) E RENDIMENTO FÍSICO	16
2.3 ANGIOTENSINA-(1-7) E REMODELAMENTO MUSCULAR.....	17
2.5 SUPLEMENTAÇÃO E RENDIMENTO FÍSICO	19
2.5 MOUNTAIN BIKE (MTB).....	21
-2.6 FORMULAÇÃO DA ANGIOTENSINA-(1-7) EM HPB-CICLODEXTRINA	22
3. OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
4.MÉTODOS	25
4.1 CUIDADOS ÉTICOS.....	25
4.2 AMOSTRA	25
4.3 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	25
4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	26
4.5 PROTOCOLO DE SUPLEMENTAÇÃO	27
4.6 TESTE DE CONTRARRELÓGIO (TT20KM) EM CICLOERGÔMETRO DE PERNAS.....	28
4.7 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA (PA E FC)	28
4.8 AVALIAÇÃO DA PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO (PSE)	28
4.9 PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO DA SESSÃO DE CONTRARRELÓGIO (SPSE).....	29
4.10 TAREFA STROOP	29
4.12 ANÁLISES SANGUÍNEAS.....	29
4.12.1 Dosagem de Lactato Sanguíneo.....	29
4.12.2 Dosagem de Glicemia	30
4.12.3 Ácidos graxos não esterificados (AGNEs).....	30
4.12.4 Creatina Quinase (CK)	30
4.17 ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
5. RESULTADOS	31
6. DISCUSSÃO	38
CONCLUSÃO	44
FINANCIAMENTO	45
REFERÊNCIAS	46
APÊNDICE	66
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO	66
ANEXOS	59
ANEXO A–PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO (PSE)	59
PERCEPÇÃO SUBJETIVA DA SESSÃO (SPSE)	59

1. INTRODUÇÃO

O Sistema Renina Angiotensina (SRA) é responsável pelo controle e pela modulação de diferentes respostas fisiológicas (FERREIRA; SANTOS, 2005; PEACH, 1977), sendo reconhecido como o maior controlador da pressão arterial e modulador do balanço eletrolítico. Recentemente, foram adicionadas contribuições do SRA por meio do eixo da Angiotensina-(1-7) no músculo esquelético, atuando de forma essencial na perfusão e no metabolismo local da musculatura esquelética (PUTHUCHEARY; SKIPWORTH; RAWAL; LOOSEMORE *et al.*, 2011). O SRA engloba a existência de dois grandes eixos; o eixo clássico composto pela enzima conversora de angiotensina (ECA), Angiotensina II (Ang II) e receptor de angiotensina II do tipo 1 (AT1) (ECA/AngII/AT1); e o eixo protetor composto pela Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2), a Ang-(1-7) e seu receptor, o Mas (ECA2/Ang-(1-7)/MAS) (DONOGHUE; HSIEH; BARONAS; GODBOUT *et al.*, 2000; SANTOS; E SILVA; MARIC; SILVA *et al.*, 2003; TIPNIS; HOOPER; HYDE; KARRAN *et al.*, 2000).

O eixo ECA2/Ang (1-7)/Mas mostra-se envolvido em efeitos mediados pelo exercício físico, visto que induz a liberação de óxido nítrico (ON) por meio do aumento da atividade enzimática de óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) (DIAS-PEIXOTO; SANTOS; GOMES; ALVES *et al.*, 2008; DIBO; MARAÑÓN; CHANDRASHEKAR; MAZZUFERI *et al.*, 2019; SAMPAIO, W. O.; SOUZA DOS SANTOS, R. A.; FARIA-SILVA, R.; DA MATA MACHADO, L. T. *et al.*, 2007; SANTOS, 2014; ZHANG; TANG; SUN; LUO *et al.*, 2019). Além da liberação de ON, a Ang-(1-7) potencializa a ação de bradicinina (BK), outro potente vasodilatador (PAULA, R. D.; LIMA, C. V.; KHOSLA, M. C.; SANTOS, R. A., 1995). A ação vasodilatadora via NO/BK pode contribuir para maior eficiência metabólica em células endoteliais humanas (SAMPALIO, W. O.; SOUZA DOS SANTOS, R. A.; FARIA-SILVA, R.; DA MATA MACHADO, L. T. *et al.*, 2007). Por fim, há relatos na literatura que a Ang-(1-7) induz a uma melhor captação e armazenamento de glicose via receptor Glut-4 na microvasculatura muscular (FU; ZHAO; AYLOR; CAREY *et al.*, 2014).

Além das ações musculares e metabólicas, existem evidências na literatura (GIRONACCI, 2015; ZAJĄC; CHALIMONIUK; GOŁAŚ; LNGFORT *et al.*, 2015) de um envolvimento da Ang-(1-7) no controle central, que pode estar envolvido na redução da fadiga central durante o exercício físico. Em um estudo realizado por XIE; ZHU; JI; TIAN *et al.* (2014), a Ang-(1-7) foi capaz de aliviar significativamente os déficits cognitivos, esse efeito neuroprotetor foi associado ao aumento da geração de ON, demonstrando que há um efeito importante da Ang-(1-7) na modulação do ON central. Além disso, a Ang-(1-7) através dos receptores Mas e AT2 promoveu uma redução na liberação da monoamina noradrenalina

(NA) de maneira dependente de BK/NO (GIRONACCI; VALERA; YUJNOVSKY; PENA, 2004; GIRONACCI; VATTA; RODRIGUEZ-FERMEPÍN; FERNÁNDEZ *et al.*, 2000). Hoje, já se sabe que a NA junto com outras monoaminas (serotonina e dopamina) em maiores concentrações estão associadas ao aumento da fadiga central, acarretando redução no desempenho físico (MEEUSEN; WATSON; HASEGAWA; ROELANDS *et al.*, 2006).

Constantemente, pesquisas que buscam a associação do rendimento físico e suplementação são comumente utilizadas como técnica ou prática para melhorar *performance* de atletas de MTB (BAILEY; FULFORD; VANHATALO; WINYARD *et al.*, 2010; GARNACHO-CASTAÑO; PALAU-SALVÀ; CUENCA; MUÑOZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2018; LARSEN; WEITZBERG; LUNDBERG; EKBLÖM, 2007). Considerando a característica do MTB, que utilizam vias energéticas aeróbicas e anaeróbicas, sofrendo uma exposição a condições físicas e psicológicas extremas durante as competições, a formulação HPβCD-Angiotensina-(1-7) com seus mecanismos de ação pode ser um suplemento promissor para melhorar o desempenho nessa modalidade, bem como um auxílio na manutenção e recuperação durante competições.

Considerando as ações da Ang-(1-7) na musculatura esquelética, no metabolismo e no sistema nervoso central, a formulação HPβCD-Angiotensina-(1-7) pode aumentar o rendimento físico, podendo vir a ser um suplemento para atletas sem efeitos colaterais, uma vez que a Ang-(1-7) é um peptídeo endógeno com boa tolerabilidade e baixa toxicidade (PROENÇA, 2016). A presente investigação é pioneira em avaliar o efeito da formulação com Angiotensina-(1-7) no rendimento físico de atletas, especificamente de MTB, em um teste de contrarrelógio.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA

O Sistema Renina Angiotensina (SRA) é um sistema peptidérgico reconhecido por ser um importante regulador na homeostase hidroeletrólítica, controle da pressão arterial, regulação de processos metabólicos, modulação do crescimento e da proliferação celular de vários tecidos (FERREIRA; SANTOS, 2005; PEACH, 1977). O SRA pode ser dividido em dois grandes eixos. O eixo composto pela renina que hidrolisa o angiotensinogênio, um substrato produzido pelo fígado, para o peptídeo inativo angiotensina I (Ang I), e que subsequentemente é clivado pela Enzima Converso de Angiotensina (ECA) em um peptídeo ativo Angiotensina II (Ang II) (WU; LU; CASSIS; DAUGHERTY, 2011). A Ang II, por sua

vez, se liga a receptores específicos, principalmente o AT1, ativando uma numerosa gama de ações biológicas, impactando em todo o organismo (FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008). A ativação crônica do eixo ECA-AngII-AT1R induz a vasoconstrição, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), inflamação vascular, desequilíbrio metabólica e o desencadeamento de doenças como câncer, diabetes e hipertensão (AROR; DEMARCO; JIA; SUN *et al.*, 2013; FERRARIO; STRAWN, 2006; TE RIET; VAN ESCH; ROKS; VAN DEN MEIRACKER *et al.*, 2015).

Por sua vez, o SRA tem o eixo protetor ou mesmo contrarregulatório ao eixo da Ang II, composto pela Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2), a Angiotensina-(1-7), e o receptor *Mas* (FERRARIO; IYER, 1998; SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000; SANTOS; E SILVA; MARIC; SILVA *et al.*, 2003). O processo para formação da Angiotensina-(1-7) pode acontecer a partir da renina, que hidrolisa o angiotensinogênio para formação do peptídeo inativo Ang I e subsequente em Ang II a partir da clivagem da ECA. A Ang II novamente sofre ação da Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA II) em Angiotensina-(1-7) (WU; LU; CASSIS; DAUGHERTY, 2011). Temos ainda a produção de Ang-(1-7) pela hidrolise de Ang-(1-9) em menor escala quando comparado a ECA 2 (FERREIRA; SANTOS, 2005). Há ainda a possibilidade de conversão direta da Ang I em Ang-(1-7) através da ação da neprilisina localizada na superfície vascular dos vasos sanguíneos (BARRETT; WOESSNER; RAWLINGS, 2012). As ações mediadas por esse eixo visa buscar o efeito contrarregulatório do eixo ECA/Ang II/ AT1, como por exemplo, inibição da proliferação celular, vasodilatação, efeitos anti-hipertroóficos, antifibróticos, anti-inflamatório e anti-hipertensivo (BENTER; FERRARIO; MORRIS; DIZ, 1995; IWATA; COWLING; GURANTZ; MOORE *et al.*, 2005; TALLANT; FERRARIO; GALLAGHER, 2005).

2.2 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA E RENDIMENTO FÍSICO

Os primeiros estudos que relacionaram o SRA e o rendimento físico foram publicados na década de 90, os autores identificaram que o polimorfismo do gene da ECA estava associado com o rendimento físico. Dessa forma, indivíduos com o genótipo D/D haviam maiores concentrações plasmáticas da ECA, que indivíduos com o alelo I/D e indivíduos com alelo I/I (concentrações mais baixas) (RIGAT; HUBERT; ALHENC-GELAS; CAMBIEN *et al.*, 1990). Apoiando esses achados PUTHUCHEARY; SKIPWORTH; RAWAL; LOOSEMORE *et al.* (2011) observaram em seu estudo que o alelo I está associado a melhor

capacidade cardiorrespiratória, com melhor consumo de oxigênio em comparação com alelo D, que está relacionado a força.

Em um estudo conduzido por ALMEIDA; BOULLOSA; PARDONO; LIMA *et al.* (2012), foi analisado a relação do polimorfismo do gene ECA sobre a capacidade cardiorrespiratória e o desempenho em corridas de meia distância. A amostra do estudo foi composta por 57 jovens brasileiros, sexo masculino e fisicamente ativos. Em conclusão aos achados, os indivíduos com o genótipo I/I proporcionaram maior consumo máximo de oxigênio em comparação com os indivíduos com genótipo I/D.

Em outro estudo, em modelo animal, os níveis plasmáticos de Ang-(1-7) foram avaliados em ratas Wistar normotensas submetidas a um protocolo de treinamento aquático. O treinamento físico aeróbio promoveu menores níveis cardíacos de Angiotensina I, menor atividade e menor expressão proteica de ECA, e, conseqüentemente, redução nos níveis de Ang II. Além de apresentarem maior atividade e maior expressão proteica de ECA2 e maiores níveis de Ang (1-7) no coração, em comparação com o grupo sedentário. Esses resultados sugerem que o exercício físico é capaz de ativar eixo ECA 2/Ang (1-7)/Mas neutralizando ou diminuindo a ativação do eixo Ang I/ECA/Ang II/ AT1 (FERNANDES; HASHIMOTO; MAGALHAES; FERNANDES *et al.*, 2011).

2.4 ANGIOTENSINA-(1-7) E RENDIMENTO FÍSICO

O eixo ECA 2/Ang (1-7)/Mas possibilita e ativa a liberação do óxido nítrico através do aumento da atividade enzimática de eNOS (*endothelial nitric oxide synthase*), pela via de sinalização condicionada da proteína AKT, por meio desse mecanismo fisiológico pode possibilitar efeitos no rendimento físico. A AKT aumenta a liberação de óxido nítrico endotelial (ON) promovendo vasodilatação. A AKT aumenta a liberação de óxido nítrico endotelial (ON) promovendo vasodilatação (SAMPAIO, W. O.; SOUZA DOS SANTOS, R. A.; FARIA-SILVA, R.; DA MATA MACHADO, L. T. *et al.*, 2007). Além da liberação de ON, a Ang (1-7) potencializa a inibição da degradação da bradicinina, outro potente vasodilatador (PAULA, R. D.; LIMA, C. V.; KHOSLA, M. C.; SANTOS, R. A., 1995), que participa de maneira importante no rendimento físico, através da sua interação com o ON, contribuindo para maior eficiência metabólica da contratilidade muscular esquelética bem como perfusão de nutrientes metabólitos.

Corroborando com essa hipótese, um estudo conduzido por nosso grupo, revela que animais transgênicos (TR) que possuem níveis circulantes de Ang-(1-7) 2,5 vezes maior que o animal controle, após exercício de natação exaustiva, apresentou menores variações nos níveis

plasmáticos de glicose, menor utilização das reservas de glicogênio muscular e hepático após o protocolo de exercício aquático, sugerindo um maior controle metabólico. Ademais, os ratos (TR) apresentaram atenuação em biomarcadores de dano muscular, LDH e α -actinina (BECKER; TOTOU; OLIVEIRA; COELHO *et al.*, 2019).

Em um estudo realizado por MOTTA-SANTOS; DOS SANTOS; OLIVEIRA; QADRI *et al.* (2016), foi avaliado o efeito da deficiência de ECA2, enzima responsável pela metabolização da Ang II em Angiotensina-(1-7), e seus possíveis impactos no desempenho físico e adaptações fisiológicas, a deficiência de ECA2 foi capaz de afetar o desempenho físico e prejudicar as adaptações dos músculos cardíacos e esqueléticos induzidas pelo treinamento de corrida voluntária por 6 semanas. Evidenciando desta forma que a Angiotensina-(1-7) pode estar envolvida em processos fisiológicos que podem influenciar positivamente o rendimento físico.

Dados não publicados do laboratório (LABFE) demonstram que atletas de MTB suplementados com a formulação HP β CD-Angiotensina-(1-7) apresentaram redução na Percepção Subjetiva de Esforço (PSE), bem como aumento no tempo total de exercício físico, consumo de oxigênio e eficiência mecânica, em um teste progressivo até a fadiga voluntária. Esses dados indicam o potencial efeito da HP β CD-Angiotensina-(1-7) no rendimento físico.

2.3 ANGIOTENSINA-(1-7) E REMODELAMENTO MUSCULAR

As lesões músculo-esqueléticas apresentam uma alta prevalência nos esportes pelo ambiente competitivo, treinamento de alta intensidade e sobrecarga, induzindo a danos musculares que resultam em um decaimento acentuado da função muscular e consequentemente no rendimento físico de atletas (HO; LEE; CHANG; CHEN *et al.*, 2020). Essas lesões podem estar associadas à dor, perdas funcionais e alterações mecânicas (AVRILLON; HUG; GUILHEM, 2020).

Protocolos de tratamentos são introduzidos para auxiliar na gravidade do dano muscular e restaurar a função máxima dos músculos o mais rápido possível (CHEUNG; HUME; MAXWELL, 2003). Medidas profiláticas têm disseminado no ambiente esportivo, e a Ciência tem apoiado no auxílio de pesquisas que visam atenuar efeitos negativos das lesões musculares. Dentre elas, podemos citar as intervenções nutricionais (CLOSE; SALE; BAAR; BERMON *et al.*, 2019), farmacológicas (GARG; CORONA; WALTERS, 2014), massagem, crioterapia, alongamento, homeopatia, ultrassom, corrente elétrica, entre outras técnicas (CHEUNG; HUME; MAXWELL, 2003).

A prevenção e o tratamento eficaz são um dos principais desafios para treinadores e médicos no esporte, visto que os atletas precisam treinar diariamente e permanecer em um estado ótimo de funções musculares durante as competições. Devido a isso, os atletas carecem de alternativas que reduzam o tempo de inaptidão. Como coadjuvante no tratamento e/ou prevenção, o Sistema Renina Angiotensina (SRA) tem apresentado sinais de ser um importante interventor nos processos de lesões musculares. O eixo ECA 2/Ang (1-7)/Mas tem apresentado indícios de efeitos benéficos no músculo esquelético.

O SRA está envolvido nos processos de trofias e reparação muscular (ACUÑA; PESSINA; OLGUIN; CABRERA *et al.*, 2014; RIQUELME; ACUÑA; TORREJÓN; REBOLLEDO *et al.*, 2014). Em um estudo realizado por MORALES; ABRIGO; ACUÑA; SANTOS *et al.* (2016), usando imobilização unilateral da pata traseira, durante 14 dias, em camundongos machos, tipo selvagem e *Mas-knockout*, avaliaram as funções do receptor da Ang-(1-7) no desuso induzido pela atrofia muscular. O tratamento com Ang-(1-7) manteve a força muscular e evitou reduções no diâmetro e massa muscular da pata imobilizada. Esses efeitos relacionados a Ang-(1-7) não foram observados em camundongos, Mas KO, indicando a participação do receptor *Mas* nas ações anti-atróficas da Ang-(1-7).

Em estudo realizado em nosso laboratório, em ratos Wistar tratados com a HP β CD-Ang-(1-7) na prevenção e tratamento de lesões musculares induzidas pelo exercício físico de contração excêntrica, evidenciou que o tratamento com HP β CD-Ang-(1-7) induziu menores níveis de lesões musculares, menores níveis de citocinas pró-inflamatórias e menor infiltração inflamatória tecidual nos músculos sóleo e gastrocnêmico (TOTOU, 2016). Em outra pesquisa do nosso grupo (BECKER; TOTOU; MOURA; KANGUSSU *et al.*, 2018), foi evidenciado que o tratamento oral com HP β CD-Ang (1-7), em um protocolo de dano muscular, após contração excêntrica, promoveu em jovens treinados a uma redução da percepção aguda da dor e menores níveis de CK, associado também a melhoria dos níveis de força máxima.

Além disso, dados com animais mostram que a Ang-(1-7) possui papel fundamental em diferentes fases do processo de reparo muscular (CABELLO-VERRUGIO; MORALES; RIVERA; CABRERA *et al.*, 2015), recrutamento de células satélites, acompanhado de regeneração muscular (CISTERNAS; MORALES; MENESES; SIMON *et al.*, 2015; MENESES; MORALES; ABRIGO; SIMON *et al.*, 2015), inibição de vias fibrogênicas (MCCOLLUM; GALLAGHER; TALLANT, 2012; MORALES; ABRIGO; MENESES; CISTERNAS *et al.*, 2015; RIQUELME; ACUÑA; TORREJÓN; REBOLLEDO *et al.*, 2014), além de desempenhar um papel anti-inflamatório (SUKUMARAN; VEERAVEEDU;

GURUSAMY; LAKSHMANAN *et al.*, 2012). Todos esses achados evidenciam que o eixo ECA2/Ang-(1-7)/Mas participa efetivamente de processos de recuperação da musculatura esquelética, podendo ser utilizada como estratégia terapêutica de forma eficaz para otimizar a recuperação ou mesmo prevenção do dano muscular.

2.5 SUPLEMENTAÇÃO E RENDIMENTO FÍSICO

O uso de suplementos com potencial efeito no rendimento físico tem sido considerado uma ferramenta importante utilizada dentro da prática esportiva. Já se sabe que a manipulação do uso de suplementos indicados e devidamente acompanhados por profissionais capacitados pode alterar resultados expressivos na performance física. No entanto, a busca incessante de estratégias que visam melhorar o rendimento físico tem culminado na utilização de suplementos de forma indiscriminada.

A suplementação é altamente prevalente em atletas (MAUGHAN; BURKE; DVORAK; LARSON-MEYER *et al.*, 2018), visto que é alta a cobrança por resultados, a busca de um recorde, manutenção de um estado ótimo de *performance*, alívio da dor musculoesquelética, ou mesmo recuperação rápida de lesões. As empresas que realizam a comercialização de suplementos compreendem essa necessidade e lançam no mercado produtos que prometem resultados extraordinários, ganhando adeptos. Mas já se sabe que muitos não possuem comprovação científica dos efeitos, não desenvolvem dados com adequado rigor científico no rendimento físico, ou mesmo, sendo o mais preocupante, ocultam efeitos negativos e prejudiciais à saúde. Segundo um consenso do Comitê Olímpico Internacional (MAUGHAN; BURKE; DVORAK; LARSON-MEYER *et al.*, 2018) existem poucos suplementos baseados em evidências para sugerir que eles tenham um efeito significativo no desempenho físico e nas habilidades esportivas.

Compreendendo a expansão tanto do uso como da comercialização dos suplementos, uma gama de pesquisas científicas tem sido realizada para evidenciar seus possíveis efeitos ergogênicos. A cafeína, por exemplo, é um dos suplementos mais consumidos, sendo também um dos mais pesquisados, e tem apresentando um impacto positivo no rendimento esportivo (DURKALEC-MICHALSKI; NOWACZYK; GŁÓWKA; GRYGIEL, 2019), como redução da percepção da dor (LAURENT; SCHNEIDER; PRUSACZYK; FRANKLIN *et al.*, 2000), aumento no tempo até a exaustão (MCLELLAN; BELL, 2004; SPRIET; MACLEAN; DYCK; HULTMAN *et al.*, 1992), retarda a fadiga central (GANIO; KLAU; CASA; ARMSTRONG *et al.*, 2009), melhora agilidade, a tomada de decisões e o desempenho cognitivo (LÓPEZ-GONZÁLEZ; SÁNCHEZ-OLIVER; MATA; JODRA *et al.*, 2018;

SÖKMEN; ARMSTRONG; KRAEMER; CASA *et al.*, 2008; VAN DUINEN; LORIST; ZIJDEWIND, 2005).

No entanto, a cafeína não apresenta resultados ergogênicos em atletas que já fazem o seu uso habitual e em dosagens recomendadas (KERKSICK; WILBORN; ROBERTS; SMITH-RYAN *et al.*, 2018; MAUGHAN; BURKE; DVORAK; LARSON-MEYER *et al.*, 2018), sendo necessárias doses mais elevadas para obter efetivamente resultados. Esse efeito pode ser nomeado de “dose-dependente”, podendo sobrecarregar o organismo devido à estimulação do sistema nervoso simpático e sistema cardiovascular (DURKALEC-MICHALSKI; NOWACZYK; GŁÓWKA; GRYGIEL, 2019). Ressaltam-se ainda relatos de taquiarritmias, aumento da excitabilidade atrial, arritmias, e alguns casos extremos há relatos de hospitalizações e mortes súbitas pela sua toxicidade (BERGER; ALFORD, 2009; CORTI; BINGGELI; SUDANO; SPIEKER *et al.*, 2002; DE ALMEIDA; PEREIRA; MOREIRA, 2013; KERRIGAN; LINDSEY, 2005; PELCHOVITZ; GOLDBERGER, 2011; WHITSETT; MANION; CHRISTENSEN, 1984).

A suplementação com Ang-(1-7), ao contrário da cafeína, apresenta baixa toxicidade e boa tolerabilidade, uma vez que estudos com pacientes com câncer, avaliando o efeito antiangiogênico da Ang-(1-7), a dose máxima que produziu toxicidade foi de 700 µg/kg, sendo que a dose em que observou efeito antiangiogênico e proporcionou melhora clínica foi de 400 µg/kg (PETTY; MILLER; MCCOY; GALLAGHER *et al.*, 2009). Além disso, a formulação com HPβCD-Ang-(1-7) não apresentou alterações em parâmetros cardiovasculares (PROENÇA, 2016). Corroborando, em dados não publicados do nosso grupo, em atletas de *mountain bike*, a frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) não apresentaram diferenças estatísticas tanto em repouso, quanto no pico de esforço físico.

Outro suplemento utilizado rotineiramente por atletas de MTB é o monoídrato de creatina, que se acredita atenuar a fadiga e melhora no rendimento anaeróbico (KREIDER, 1999; SMITH; STEPHENS; HALL; JACKSON *et al.*, 1998), sendo uma via energética utilizada em aclives e nos *sprints* do MTB. Outro fator que explica o uso desse suplemento no MTB é seu possível auxílio na recuperação entre treinamentos, no qual os estoques de glicogênio muscular e hepático são restaurados mais rapidamente (MOLINA; ROCCO; FONTANA, 2009). Em pesquisa realizada por MOLINA; ROCCO e FONTANA (2009), em 20 atletas de elite do MTB, os resultados apresentaram aumento na potência de pico no grupo suplementado com creatina quando comparado com o placebo, além de obter resultados

significativos na redução no índice de fadiga, induzindo desta forma a conclusão de que a suplementação com creatina pode ser uma boa estratégia utilizada nesta modalidade.

Existe um arcabouço de pesquisas recentes que busca mostrar o uso de suplementos e seu possível efeito ergogênico no MTB, como nitrogênio farmacológico (nitrato de sódio) (LARSEN; WEITZBERG; LUNDBERG; EKBLOM, 2007), dietético (suco de beterraba) (GARNACHO-CASTAÑO; PALAU-SALVÀ; CUENCA; MUÑOZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2018), nitrato (NO₃) (BAILEY; FULFORD; VANHATALO; WINYARD *et al.*, 2010), glutamina (OSBORNE; STEWART; BEAGLEY; BORG *et al.*, 2019), carboidrato (MURRAY; PARIS; FLY; CHAPMAN *et al.*, 2018) e proteína marinha (MJØS; THORSEN; HAUSKEN; LIED *et al.*, 2019). Os autores avaliaram o potencial efeito ergogênico desses suplementos para aumento da *performance* física, e nenhum dos suplementos pesquisados há uma unanimidade de seus resultados. Todos os estudos acima citados concluem que são necessários mais experimentos para afirmar que algum suplemento afeta positivamente o rendimento físico.

Os fatores expostos acima levam a utilização de suplementos de forma empírica na tentativa de potencializar a recuperação e desempenho físico, sendo assim, faz-se necessárias pesquisas coerentes e que, verdadeiramente, comprovem seus efeitos ergogênicos ao rendimento físico de atletas.

2.5 MOUNTAIN BIKE (MTB)

O MTB é uma modalidade olímpica, que surgiu em meados da década de 70, na Califórnia (EUA), e hoje é uma das competições mais populares, ganhando adeptos de forma surpreendente em todo mundo, seja ela no âmbito do lazer e/ou no alto rendimento. Por ter alcançado um cenário promissor, eventos e competições tem alcançado destaques na mídia internacional, e, junto a isso, atraiu o interesse de cientistas do esporte com a finalidade de aprimorar os resultados dos atletas desta modalidade (BURR; DRURY; IVEY; WARBURTON, 2012).

O MTB é marcado por provas longas, cerca de 120 minutos, que podem ser realizadas com uma frequência cardíaca média de até 90% e 80% do tempo de prova é acima do limiar de lactato, pela alta potência em terrenos íngremes (GRANIER; ABBISS; AUBRY; VAUCHEZ *et al.*, 2018). Um dos pontos marcantes nesta modalidade é o alto consumo de oxigênio, segundo relatos de pesquisadores, podendo chegar a 84% (VO₂máx) (IMPELLIZZERI; MARCORA, 2007). Devido a essas características, existem diversas alterações mecânicas fisiológicas como; depleção dos estoques de glicogênio muscular, alta

requisição do sistema cardiorrespiratório e demanda energética (BURR; DRURY; IVEY; WARBURTON, 2012).

Além das necessidades metabólicas e fisiológicas, atletas de MTB relatam frequentemente histórico de lesões músculo esqueléticas, o alto volume de treinos e movimentos repetitivos e demasiado durante o ciclismo, causando uma fadiga excessiva promovendo o aumento lesões crônicas (ANSARI; NOURIAN; KHODAEI, 2017). Existem indícios suficientes na literatura (ACUÑA; PESSINA; OLGUIN; CABRERA *et al.*, 2014; BECKER; TOTOU; MOURA; KANGUSSU *et al.*, 2018; CABELLO-VERRUGIO; MORALES; RIVERA; CABRERA *et al.*, 2015; CISTERNAS; MORALES; MENESES; SIMON *et al.*, 2015; MCCOLLUM; GALLAGHER; TALLANT, 2012; MENESES; MORALES; ABRIGO; SIMON *et al.*, 2015; MORALES; ABRIGO; ACUÑA; SANTOS *et al.*, 2016; MORALES; ABRIGO; MENESES; CISTERNAS *et al.*, 2015; RIQUELME; ACUÑA; TORREJÓN; REBOLLEDO *et al.*, 2014; SUKUMARAN; VEERAVEEDU; GURUSAMY; LAKSHMANAN *et al.*, 2012; TOTOU, 2016) evidenciando que o eixo ECA2/Ang-(1-7)/Mas participa efetivamente no dano muscular e processos de recuperação da musculatura esquelética.

Sendo assim, por ser uma modalidade com tantas demandas fisiológicas, carecer de um metabolismo energético e reparação tecidual, a Angiotensina-(1-7), pautada na literatura científica, atuaria como um recurso ergogênico para atletas de MTB, visto que induziria a produção do óxido nítrico e bradicinina e facilitaria a troca de substratos energéticos na musculatura esquelética, concomitantemente auxiliaria na redução do dano muscular.

-2.6 FORMULAÇÃO DA ANGIOTENSINA-(1-7) EM HPB-CICLODEXTRINA

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos, com uma cavidade polar e a outra apolar. Essa característica anfílica permite a formação de um complexo supramolecular de inclusão. As ciclodextrinas não são hidrolisadas e nem absorvidas no estômago ou no intestino delgado, porém a flora do cólon quebra as ciclodextrinas em sacarídeos menores, os quais são absorvidos (DEL VALLE, 2004; IRIE; UEKAMA, 1999).

Dentre as ciclodextrinas, as do tipo beta têm sido mais frequentemente utilizadas na formação de compostos de inclusão com fármacos, melhorando as características de solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade (DEL VALLE, 2004; IRIE; UEKAMA, 1999). A melhor solubilidade permite uma rápida elevação dos níveis plasmáticos e a obtenção de valores de pico mais precoces, além de uma liberação uniforme do fármaco por um tempo mais prolongado.

O peptídeo Angiotensina- (1-7) é um componente do Sistema Renina Angiotensina, sendo esse peptídeo uma substância endógena produzida e liberada em diversos órgãos (FILHO; FERREIRA; SANTOS; NEVES *et al.*, 2008). Suas ações podem melhorar alguns parâmetros cardiovasculares e metabólicos em algumas doenças crônicas (SANTOS; OUDIT; VERANO-BRAGA; CANTA *et al.*, 2019). A formulação oral é necessária para proteger o peptídeo da degradação do trato gastrointestinal e foi previamente testada em voluntários saudáveis (BECKER; TOTOU; MOURA; KANGUSSU *et al.*, 2018)(dados não publicados). Foi desenvolvido em 2001 e tem sido utilizado em estudos experimentais (BASTOS; MAGALHÃES; GREGÓRIO; MATOS *et al.*, 2019; DE VRIES; REITZEMA-KLEIN; METER-ARKEMA; VAN DAM *et al.*, 2010; MARQUES; FERREIRA; SINISTERRA; JACOBY *et al.*, 2011) e clínicos (PROENÇA, 2016).

As ciclodextrinas já obtiveram aprovação para uso em diversos estudos clínicos, a biodisponibilidade oral previamente demonstrada em animais (BASTOS; MAGALHÃES; GREGÓRIO; MATOS *et al.*, 2019; FELTENBERGER; ANDRADE; PARAÍSO; BARROS *et al.*, 2013; FRAGA-SILVA; COSTA-FRAGA; SOUSA; ALENINA *et al.*, 2011; MARQUES; FERREIRA; SINISTERRA; JACOBY *et al.*, 2011; MARQUES; MELO; SOUZA; IRIGOYEN *et al.*, 2012) e humanos (BECKER; TOTOU; MOURA; KANGUSSU *et al.*, 2018; PROENÇA, 2016). Não são conhecidos efeitos tóxicos, e estudos com a beta-ciclodextrina demonstraram a inocuidade desta molécula, evidenciando ser viável e reprodutível a inclusão da Ang-(1-7) em HP β CD-Ciclodextrina (BECKER; TOTOU; MOURA; KANGUSSU *et al.*, 2018). Deve-se enfatizar que, neste caso, apenas Ang-(1-7) entra na corrente sanguínea (SANTOS; SAMPAIO; ALZAMORA; MOTTA-SANTOS *et al.*, 2018).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito da suplementação oral HP β CD-Ang-(1-7) no rendimento físico de atletas de MTB.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da formulação oral HP β CD-Angiotensina-(1-7) em atletas de MTB:

- Associada ao esforço físico em parâmetros cardiovasculares (FC e PA);
- Duração do teste de contrarrelógio (TT20km);
- Tarefa cognitiva (Stroop);
- Medidas perceptivas (sPSE e PSE);
- Marcadores bioquímicos (Lactato, AGNEs e glicose);
- Marcador de dano muscular (CK).

4.MÉTODOS

4.1 CUIDADOS ÉTICOS

Estudo experimental realizado na Universidade Federal de Ouro Preto e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos sob protocolo: 14912519.4.0000.5150. Para participar da pesquisa, os participantes tomaram ciência dos objetivos do estudo e de seus possíveis benefícios e riscos, posteriormente os sujeitos foram convidados a assinarem um termo de consentimento livre e esclarecido.

4.2 AMOSTRA

Foram selecionados 10 atletas de MTB da região de Ouro Preto-MG. Os critérios de inclusão eram ser do sexo masculino, praticar a modalidade de MTB há no mínimo 3 anos, que estivessem envolvidos em seus programas de treinamento há pelo menos um ano, com volume semanal de treinos de no mínimo 5 dias por semana. Participado em provas regionais/nacionais nos últimos 6 meses, ter mais de 18 anos e não ser daltônico. Como Critérios de exclusão; desistência, não comparecimento na bateria de testes físicos no dia e hora programados, apresentar algum tipo de enfermidade que comprometa a coleta dos dados, indivíduos com qualquer tipo de patologia, fumante, uso de medicamentos como anti-inflamatórios e antibióticos e/ou outros que possam comprometer dados da pesquisa, bem como suplementos que interferem nos parâmetros cardiovasculares como:caféina, guaraná e taurina.

Para a variável de cálculo amostral utilizou-se o parâmetro creatina quinase (CK), publicado no artigo (BECKER; TOTO; MOURA; KANGUSSU *et al.*, 2018), por meio do software Biostat, com variância de 197U/L e erro padrão da média de 159U/L, considerando um poder estatístico de 0,8 e nível de significância de 0,05. A partir dessas variáveis, obteve-se um número amostral de 9 voluntários.

4.3 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

A avaliação antropométrica foi determinada por uma balança digital com precisão de 100g e capacidade máxima para 150 kg (G. TECH®). Para aferição da estatura, utilizou-se um estadiômetro com escala de 0,1 cm (WISO®). A partir dessas duas variáveis, foi calculado o índice de massa corporal (IMC), por meio da fórmula (kg/m²).

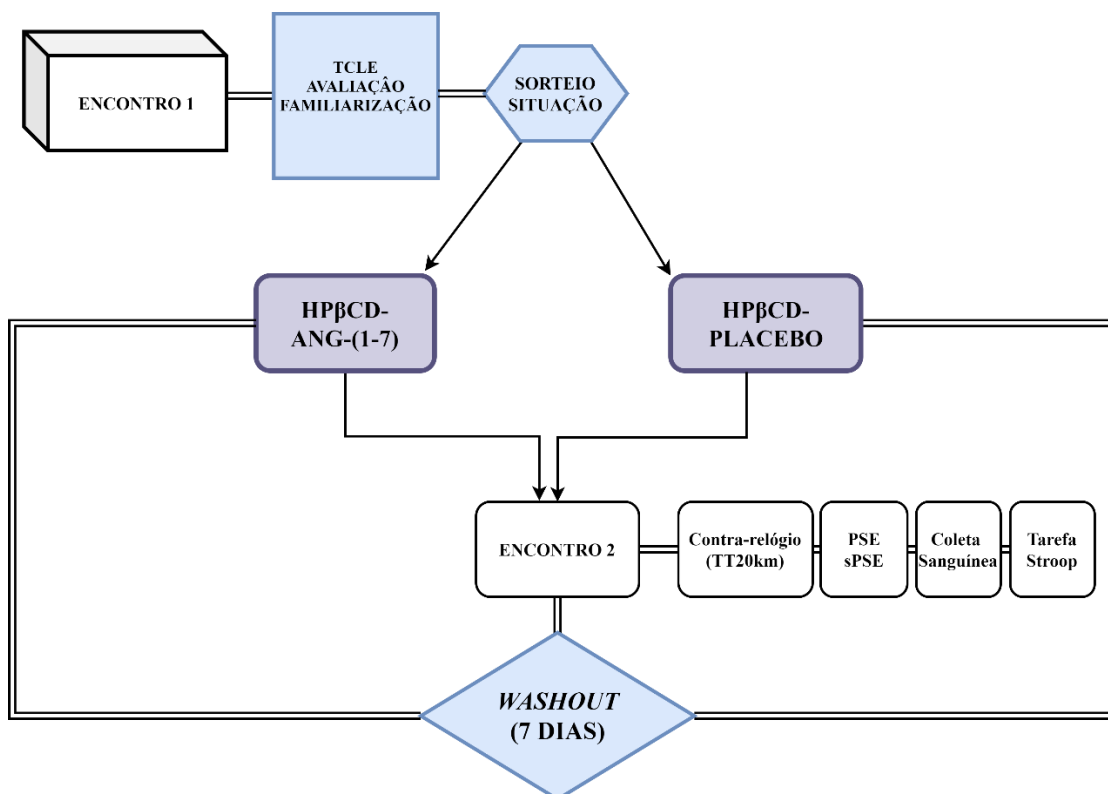
4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os participantes visitaram o laboratório de Fisiologia do Exercício da Universidade Federal de Ouro Preto (LABFE) em 5 ocasiões distintas (E1, E2, E3, E4 e E5), em cada condição (HP β CD-Ang-(1-7) ou HP β CD-Placebo). No E1, os voluntários foram convidados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e, em seguida, foi realizado um ensaio de familiarização para reconhecimento do teste de contrarrelógio (TT20km), e sorteio de qual condição o voluntário seria alocado (HP β CD-Ang-(1-7) ou HP β CD-Placebo). Após o intervalo de 7 dias do E1, ocorreu o segundo encontro (E2), os voluntários retornaram ao LABFE com a suplementação previamente sorteada (E1) e realizaram os procedimentos de coleta dos testes físicos.

Após completar a primeira fase da bateria de testes, o voluntário realizou um intervalo de 7 dias para a segunda fase de bateria dos testes físicos (E3), nesse momento, o indivíduo retomou na condição contrária ao primeiro sorteio (HP β CD-Ang-(1-7) ou HP β CD-Placebo), repetindo todos os procedimentos anteriores. No retorno ao laboratório, foi coletada a anamnese dos sujeitos para determinar se houve reações adversas ao suplemento e/ou placebo e, se eles mantiveram a dieta e as rotinas de treinamento físico. Após 24h (E4) e 48h (E5) da bateria de testes físicos o voluntário retornou ao LABFE para coleta sanguínea.

Durante a intervenção, foram solicitados que o treinamento físico, a ingestão alimentar e as horas de sono fossem mantidas de forma regular. Além disso, os indivíduos foram instruídos previamente a não ingerirem nenhum alimento e/ou suplemento que pudessem alterar os parâmetros cardiovasculares (como cafeína e guaraná), evitar exercícios extenuantes nas 48 horas antecedentes a bateria de testes físicos. Vale ressaltar que os ensaios experimentais de todos os participantes foram realizados nos períodos vespertino e noturno, sendo mantidos os mesmos horários e condições durante os dois dias de teste contrarrelógio.

Figura 1: Delineamento Experimental



Percepção subjetiva de esforço (PSE); percepção subjetiva de esforço da sessão de teste de contrarrelógio (sPSR). Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5 PROTOCOLO DE SUPLEMENTAÇÃO

A formulação HPβCD-Angiotensina-(1-7) foi desenvolvida pelo Departamento de Química em parceria ao Laboratório de Hipertensão do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, os detalhes foram descritos no estudo conduzido por LULA; DENADAI; RESENDE; DE SOUSA *et al.* (2007). Vale ressaltar que o uso da formulação (HPβCD-Ang- (1-7)) foi patenteada por nosso grupo de pesquisa sob número (BR 10 2016 0244064).

A distribuição do suplemento foi duplo-cego e randomizada. Os participantes receberam uma dose única da formulação de HPβ-CD-Placebo (2mg) e HPβ-CD-Ang-(1-7) (2mg), garantindo que 50% dos indivíduos usassem aleatoriamente HPβ-CD-Placebo na primeira sessão e HPβCD-Ang-(1-7) na segunda sessão ou vice-versa. O duplo cego e à randomização dos experimentos foi conduzida por uma terceira pessoa, a qual não esteve

envolvida na coleta de dados. Os grupos foram revelados aos pesquisadores apenas no momento da interpretação dos dados.

A formulação HP β CD-Ang-(1-7) (2mg) e HP β CD-Placebo(2mg) foi administrada por via oral, em forma de cápsula, três horas antes do início de cada teste de contrarrelógio (TT20km). O tempo de 03 horas foi pré-estabelecido considerando a janela de ação da Ang-(1-7) entre 02 a 06 horas. As cápsulas eram idênticas em aparência, tamanho, peso e sem sabor, garantindo o cegamento dos participantes.

4.6 TESTE DE CONTRARRELÓGIO (TT20KM) EM CICLOERGÔMETRO DE PERNAS

Os ciclistas foram familiarizados com o teste de contrarrelógio (TT20km) durante uma sessão preliminar (E1). Um cicloergômetro (Biotec 2100, CEFISE Biotecnologia) foi conectado a um dispositivo (Ergometric 6.0, CEFISE Biotecnologia), que fornecia potência (W), cadência (rpm) e velocidade (km.h⁻¹). O Cicloergômetro foi ajustado individualmente de acordo com as preferências dos voluntários. O dispositivo foi calibrado antes de cada teste de acordo com as instruções do fabricante.

Após um aquecimento de 7 minutos com carga fixa de 1kg (rpm livre), eles iniciaram imediatamente o TT20km, com carga fixa de 1,5kg. Os ciclistas foram orientados a finalizar o teste no menor tempo possível. Durante o teste foi permitido aos ciclistas levantarem do assento e estavam livres para acompanhar a rpm e km/h como feedback. O tempo para completar o TT20km, potência média, RPM e velocidade foram registrados e utilizados como medidas de desempenho. Foi disponibilizado uma garrafa de 500 ml de água durante os ensaios para hidratação.

4.7 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA (PA E FC)

A pressão arterial foi aferida através de um esfigmomanômetro aneróide (Missouri®) com o estetoscópio (Missouri®) antes e imediatamente após o protocolo de teste de contrarrelógio. Ressalta que a PA de repouso foi mensurada após o voluntário permanecer 12 minutos deitado, em seguida, ele se sentou em uma cadeira confortável para aferição da pressão arterial. A FC foi avaliada em repouso e no pico de esforço máximo, através do Pollar RS800 (POLAR, Finland).

4.8 AVALIAÇÃO DA PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO (PSE)

Para a avaliação da PSE adotou-se como referência a escala de Borg (CR0-10) (BORG, 1982). A PSE foi coletada a cada 2km completados.

4.9 PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO DA SESSÃO DE CONTRARRELÓGIO (sPSE)

O método da percepção subjetiva de esforço da sessão de contrarrelógio (TT20km) foi proposto por FOSTER; FLORHAUG; FRANKLIN; GOTTSCHALL *et al.* (2001), baseada em um questionamento simples. Após trinta minutos ao término da sessão do teste físico, o voluntário respondeu a seguinte pergunta: “Como foi a sessão de contrarrelógio (TT20km)?”. A resposta ao questionamento foi fornecida a partir da escala Borg (CR0-10) (BORG, 1982).

4.10 TAREFA STROOP

Os sujeitos foram sentados em uma cadeira confortável para a tarefa cognitiva de Stroop (STROOP, 1992). As tarefas de Stroop consistiam na exibição das palavras branco, vermelho, amarelo e laranja. A tarefa Stroop foi programada e executada no software PsyToolkit (STOET, 2010; 2017). Os participantes foram convidados a indicar por meio de teclas de em um teclado a cor em que a palavra foi apresentada (b=branco; V=vermelho; L=laranja; A=amarelo), se congruente (escrita branco e em cor branca) ou incongruente (escrita amarelo em cor vermelha). A apresentação congruente ou incongruente foi de forma aleatória, evitando a expectativa dos participantes em relação aos estímulos. O teste incluiu 40 estímulos com duração máxima de 2000 ms, cada tentativa incluiu uma cruz fixa apresentada no centro da tela com 600 ms e a informação na tela (incorreto e correto) com duração de 600ms. Os sujeitos tiveram que identificar a cor da palavra exibida e o código da tecla no teclado referente a ela. A tarefa Stroop foi realizado antes e logo após o teste de contrarrelógio (20km).

4.12 ANÁLISES SANGUÍNEAS

Amostras de sangue foram retiradas pré e imediatamente após a bateria de testes físicos, através de punção venosa padrão técnica a partir da veia antecubital. Aproximadamente 12 ml de amostras de sangue foram colhidas em tubos vacutainers contendo fluoreto de sódio, soro e EDTA. Imediatamente após a coleta, o sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, alíquotas soro e plasma foram transferidos para tubos eppendorfs e armazenadas a -20 ° C para posterior análises.

4.12.1 Dosagem de Lactato Sanguíneo

A concentração de lactato foi avaliada no plasma, utilizando tubos BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA, coletado antes e imediatamente após o teste de contrarrelógio (20km), analisada de acordo com o kit (BIOCLIN FAB. QUIBASA QUÍMICA BÁSICA LTDA

PROC. BRASIL), pelo método UV enzimático líquido estável, em um analisador automático (CM200, Wiener Lab Group, Rosário, Argentina).

4.12.2 Dosagem de Glicemia

A glicemia foi mensurada no plasma, utilizando tubos BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA, coletado antes e imediatamente após o teste de contrarrelógio (20km), analisada de acordo com o kit (BIOCLIN FAB. QUIBASA QUÍMICA BÁSICA LTDA PROC. BRASIL), pelo método UV enzimático líquido estável, em um analisador automático (CM200, Wiener Lab Group, Rosário, Argentina).

4.12.3 Ácidos graxos não esterificados (AGNEs)

Os níveis de AGNEs foram mensurados no plasma, utilizando tubos BD Vacutainer® Fluoreto/EDTA. Os AGNEs foram analisados antes e imediatamente após o teste de contrarrelógio (20km) de acordo com o kit Randox® (Randox Laboratories, Oceanside, CA), em um analisador bioquímico automático (CM200, Wiener Lab Group, Rosário, Argentina).

4.12.4 Creatina Quinase (CK)

A determinação quantitativa dos níveis totais da Creatina quinase (CK) foi realizada nos tempos pré, pós, 24 e 48h após o teste físico. Os níveis séricos das enzimas CK foram mensurados à temperatura aproximada de 37°C pelo método cinético enzimático, utilizando kit comercial (BIOCLIN FAB. QUIBASA QUÍMICA BÁSICA LTDA PROC. BRASIL) em um analisador automático (CM200, Wiener Lab Group, Rosário, Argentina).

4.17 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa *GraphPad Prism 7* (*GraphPad Software Inc.*, San Diego, CA, EUA). A caracterização da amostra foi realizada por meio das médias \pm desvio padrão. A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro wilk. As diferenças inter e intracondições foram comparados com o teste “t” pareado quando os dados apresentaram distribuição normal. Para dados não normais, o teste de classificação sinalizada de pares combinados de Wilcoxon foi usado. Informações sobre a normalidade dos dados foram adicionadas às figuras. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão (DP) para dados com distribuição normal e dados não paramétricos foram apresentados em mediana \pm intervalo de confiança (IC) 95%. O nível de significância foi p

<0,05 para todos os testes. Adicionalmente, foi utilizada uma regressão por meio de equações da reta para a avaliação da PSE a cada 2km ao longo teste físico de contrarrelógio.

5. RESULTADOS

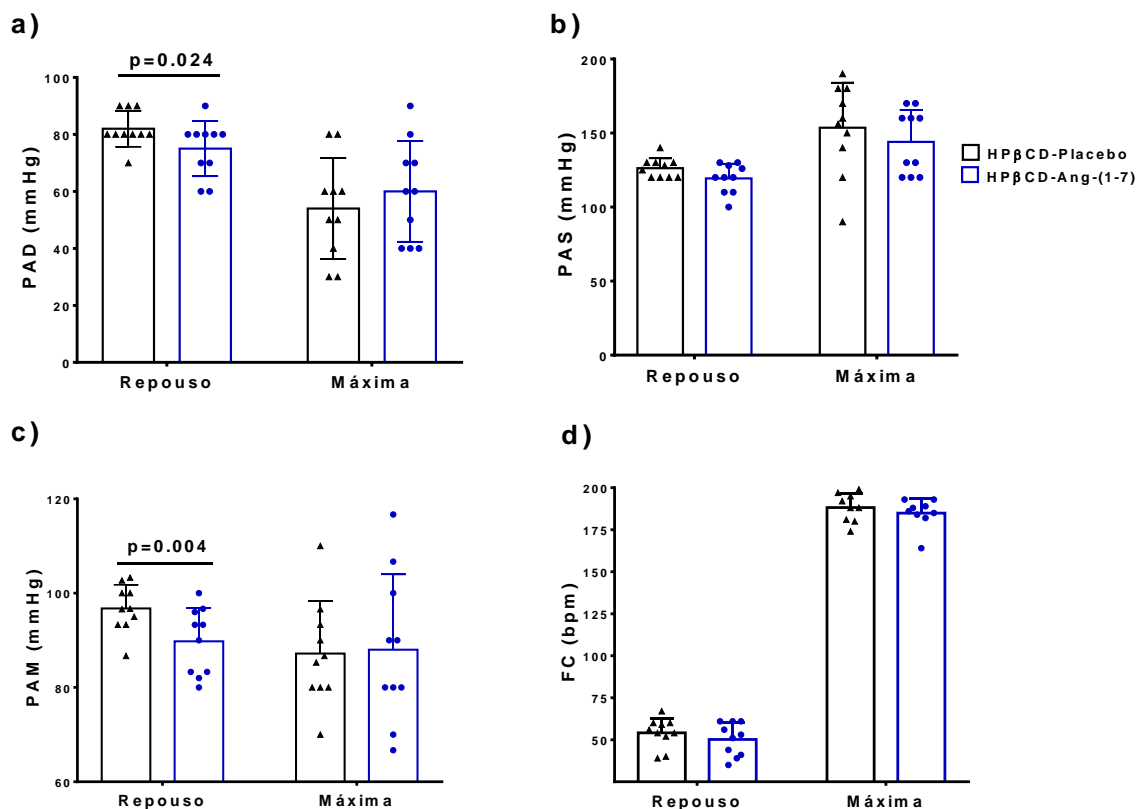
Na tabela 1 são apresentadas as características dos participantes. Os dados a seguir apresentam valores médios e de desvio padrão dos dez voluntários do sexo masculino. Todos os participantes completaram o delineamento experimental conforme planejado. O elevado $VO_{2máx}$ observado em nossos voluntários confirma que a amostra dos participantes do estudo era altamente treinada, bem como indica que a modalidade de MTB exigem uma alta potência aeróbia.

Tabela 1: Caracterização da Amostra

N	Massa corporal (kg)	Estatura (m)	Idade (anos)	IMC (kg/cm ²)	Tempo de Prática (anos)	Dias/semana	h/treino semanal (h)	Km/semanal (km)	VO ₂ máx (ml/kg/min)
10	72,1± 6,4	1,73 ±0,06	33,5 ±7,3	23,8± 1,3	11,0 ±8,6	5,7±1,0	10,6±2,5	207,0±57,7	61,12±12,78

Kg: Quilogramas; cm: Centímetros; Km: quilômetro; h: hora Fonte: Elaborado pelo autor.

Considerando os efeitos da Ang-(1-7) em parâmetros cardiovasculares foi aferido os valores de PAD, PAS, PAM e FC em repouso e durante o pico de esforço físico.



A) Pressão arterial diastólica (PAD) de repouso ($p=0,02$; teste t pareado) e pico de esforço ($p=0,32$; teste t pareado) nas condições tratado (H β CD-Ang- (1-7) e (HP β -CD-Placebo). B) Pressão arterial sistólica (PAS) de repouso ($p=0,06$; teste t pareado) e no pico de esforço ($p=0,29$; teste Wilcoxon-Mann-Whitney) nas condições tratado (H β CD-Ang- (1-7) e (HP β -CD-Placebo) C) Pressão arterial média (PAM) de repouso ($p=0,004$; teste t pareado) e no pico de esforço ($p=0,87$; teste t pareado) nas condições tratado (H β CD-Ang- (1-7) e (HP β -CD-Placebo) D) Frequência cardíaca (FC) de repouso ($p=0,18$; teste t pareado) e no pico de esforço ($p=0,06$; teste t pareado), nas condições tratado (H β CD-Ang- (1-7) e (HP β -CD-Placebo). Bpm: batimentos por minuto. N=10 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

Foram observadas diferenças entre as condições para a PAD em repouso (HP β CD- placebo = $82,0 \pm 6,3$ mmHg vs. HP β CD-Ang- (1-7) = 75 ± 10 mmHg; (Figura 2a). Para PAD no pico de esforço não houve diferença entre as condições (HP β CD- placebo = $54,0 \pm 17,76$ mmHg vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $60,0 \pm 17,64$ mmHg; (Figura 2a). Para a variável PAS em repouso (HP β CD-placebo = $126,3 \pm 6,60$ mmHg vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $119,4 \pm 9,98$ mmHg;) (Figura 2b). PAS máxima (HP β CD-placebo = $153,6 \pm 30,56$ mmHg vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $144,0 \pm 21,7$ mmHg; não foi encontrada diferenças estatísticas (Figura 2b). Houve diferenças entre as condições na PAM em repouso (HP β CD- placebo = $96,76 \pm 5,02$ mmHg vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $89,79 \pm 7,11$ mmHg; (Figura 2c), a PAM máximo não apresentou diferenças entre as condições (HP β CD-placebo = $87,19 \pm 11,1$ mmHg vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $88,01 \pm 15,97$ mmHg) (Figura 2c).

Os valores de frequência cardíaca em repouso foram as seguintes: HP β CD-placebo = $54 \pm 8,78$ bpm vs HP β CD-Ang- (1-7) = $50,2 \pm 9,84$ bpm; (Figura 2d). No pico de esforço máximo, as frequências cardíacas foram as seguintes: HP β CD-placebo = $188,2 \pm 8,48$ bpm vs HP β CD-Ang- (1-7) = $184,9 \pm 8,69$ bpm; (Figura 3d).

A figura 3 mostra as variáveis de rendimento físico, o objetivo foi verificar o efeito da HP β CD-Ang-(1-7) no rendimento físico em um teste de contrarrelógio (20km). Não houve diferença significativa entre a condição HP β -CD-Ang-(1-7) e a condição placebo no teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

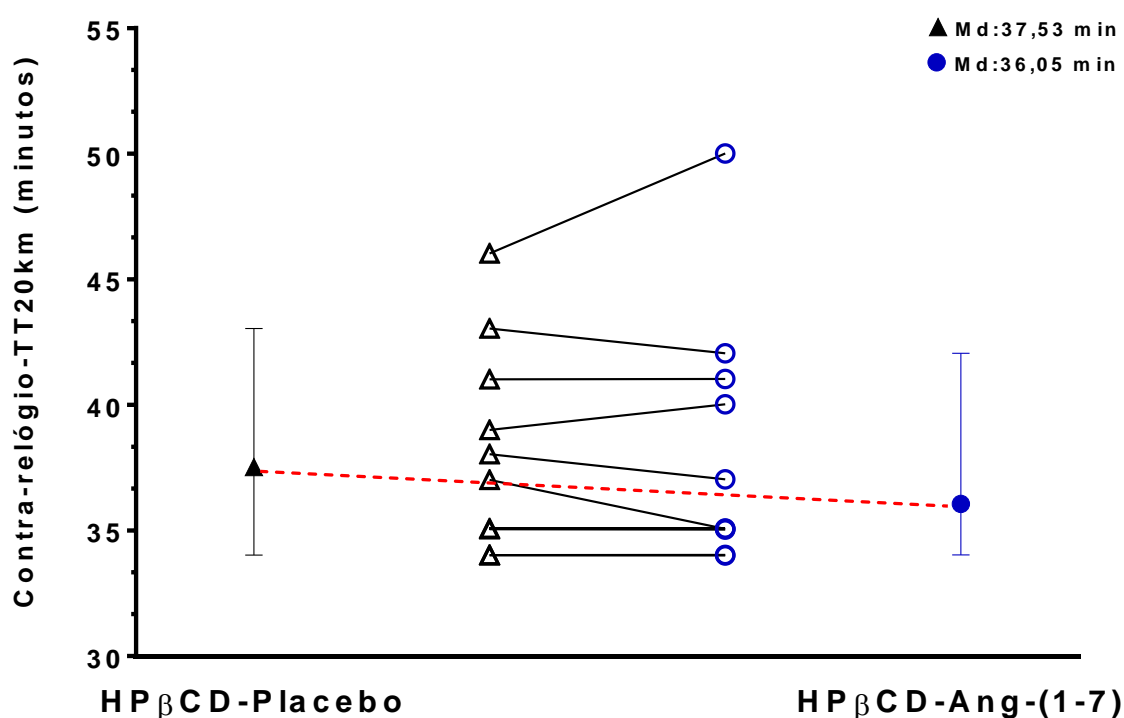


Figura 3. Contrarrelógio (TT20km) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo ($p=0,76$; teste Wilcoxon-Mann-Whitney). Quilômetros (km). Cada linha representa um. N=10. Fonte: Elaborado pelo autor.

Não foram observadas diferenças estatísticas na potência máxima entre as condições (HP β CD- placebo = $187,4 \pm 21,46$ W vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $200,4 \pm 28,75$ W; (Figura 4a). A potência média não foi diferente entre as condições (HP β CD- placebo = $145,2 \pm 14,28$ W vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $157,9 \pm 22,19$ W; (Figura 4b). Para a variável rotação por minutos (RPM) não foi observado diferença entre as condições (HP β CD- placebo = $95,3 \pm 11,51$ rpm vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $101,4 \pm 14,78$ rpm; (Figura 4c). Por fim, a velocidade por hora

(km/h) não apresentou diferenças entre as condições (HP β CD- placebo = $25,65 \pm 2,88$ km/h vs. HP β CD-Ang- (1-7) = $27,9 \pm 3,73$ km/h; (Figura 4d).

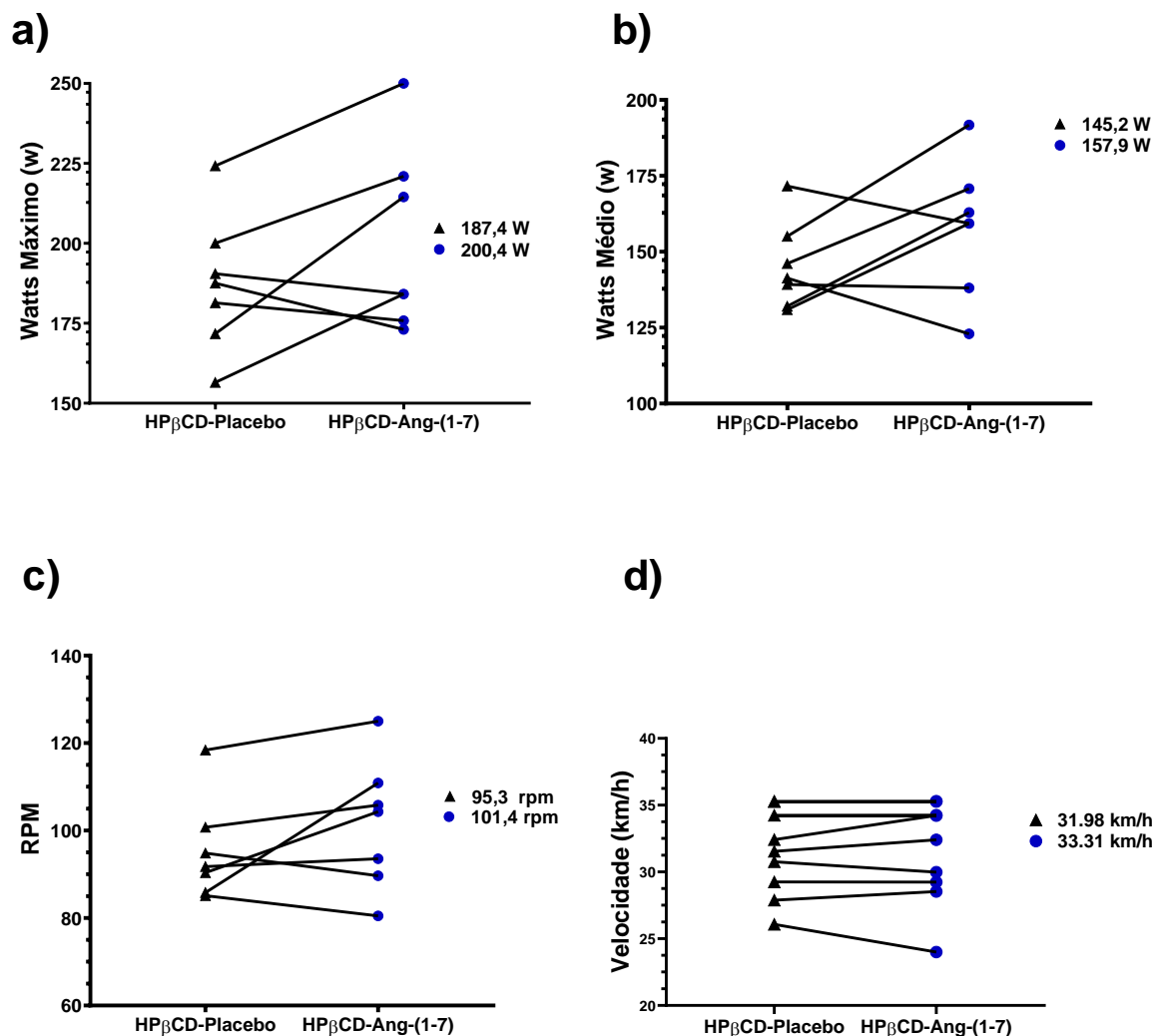


Figura 4. A) Valores do watt máximo (W) produzido no contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. $p=0,16$; teste t pareado B) Valores do watt médio (W) produzido no teste de contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. $p=0,18$; teste t pareado C) Valores médios da rotação por minuto (RPM) produzido no contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. $p=0,18$; teste t pareado D) Valores médios da velocidade por hora (km/h) produzido no TT20km contrarrelógio na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. $p=0,23$; teste t pareado. Os valores foram apresentados em Média \pm desvio padrão (DP). Sem diferenças estatísticas para teste t pareado. Quilômetros (km). N= 9 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

Na figura 5, são apresentadas as variáveis perceptivas de PSE e PSE da sessão do teste de contrarrelógio, entre as condições HP β -CD-Ang-(1-7) e HP β -CD-Placebo, não foram observadas diferenças estatísticas.

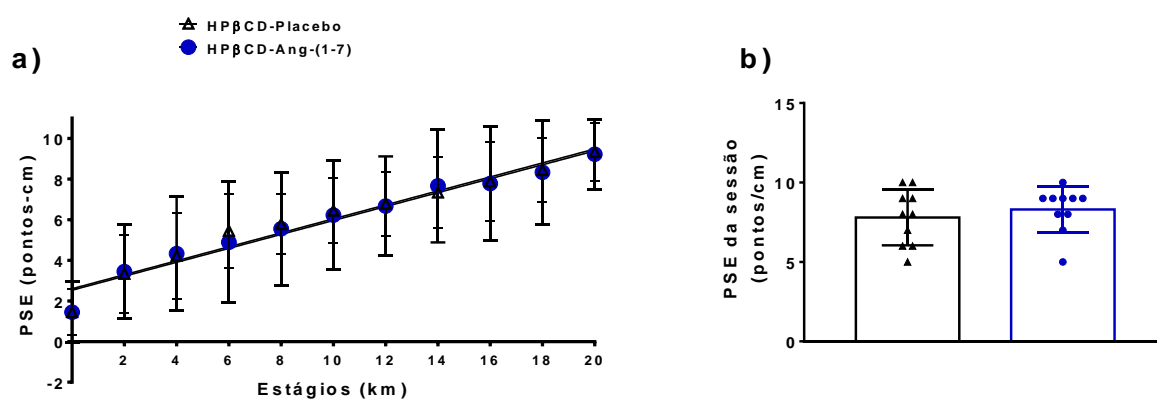


Figura 5. A) Escala de Percepção Subjetiva de Esforço (PSE) a cada 2km no teste de contrarrelógio na condição tratada HPβCD-Ang-(1-7) e Condição HPβCD-Placebo. B) Percepção Subjetiva de Esforço da Sessão (sPSE) na condição tratada HPβCD-Ang-(1-7) e Condição HPβCD-Placebo. ($p=0,38$). Centímetros (cm); quilômetros (km). Sem diferenças estatísticas para teste t pareado e regressão em linha reta. $N= 10$ para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados referentes à Tarefa de Stroop são apresentados na figura 6. Para a média de tempo em ms pré e pós teste não houve diferença significativa entre as condições. Para as análises erros de tecla pré e pós, e erros pelo tempo pré e pós não foram encontradas diferenças significativas. Quando foi comparada a situação pré e pós para condição tempo, houve diferença significativa entre formulação HPβCD-Ang-(1-7) e HPβCD-Placebo.

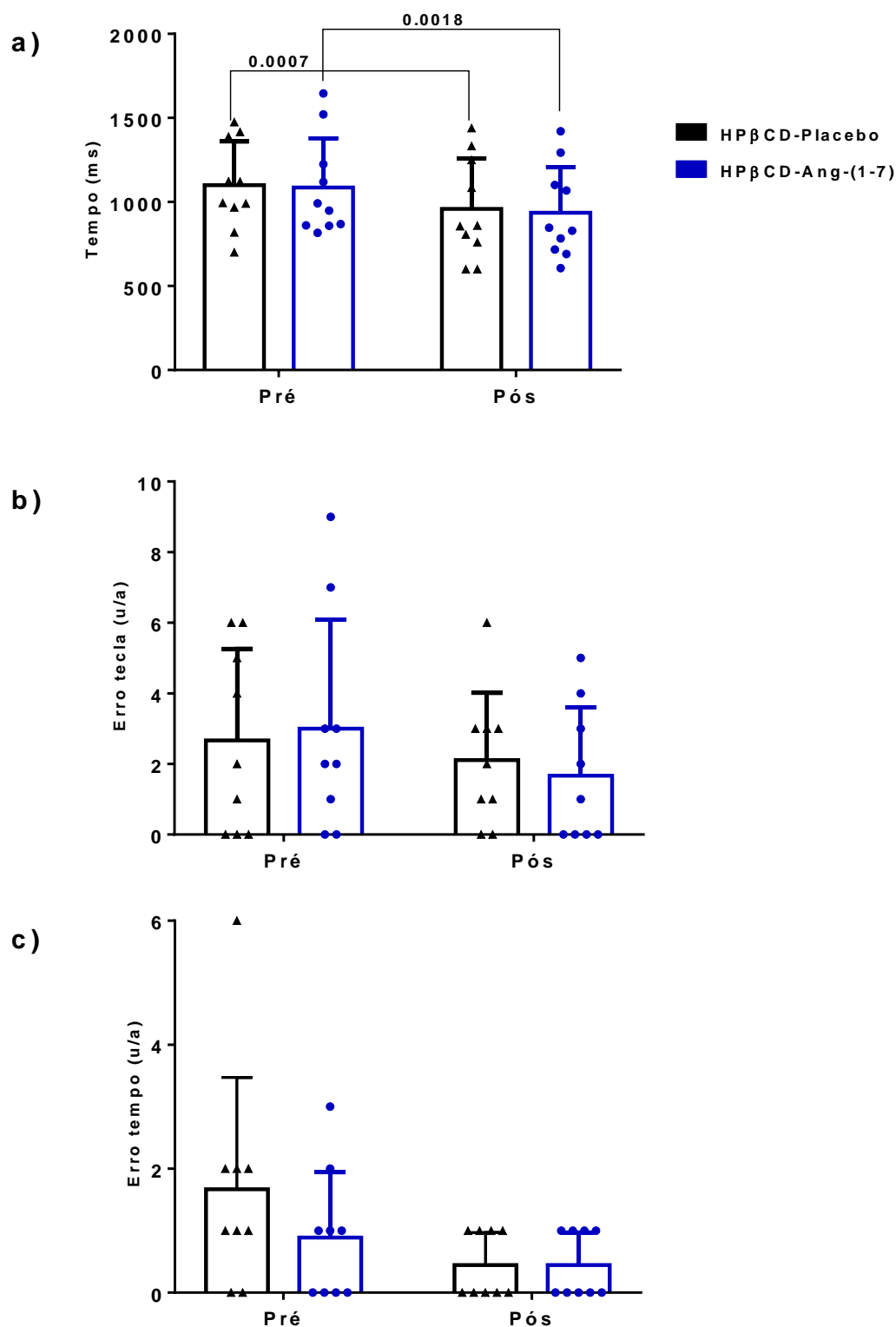


Figura 6. A) Valores do tempo médio em milissegundos (ms) produzido na Tarefa de Stroop pré ($p=0,42$) e pós ($p=0,43$) teste na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo; teste t pareado B) unidade arbitrária (u/a) erro de tecla na Tarefa de Stroop pré ($p=0,60$) e pós ($p=0,53$) teste na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo; teste t pareado. C) unidade arbitrária (u/a) erro de tempo na Tarefa de Stroop pré ($p=0,42$) e pós ($p=0,99$) teste na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo; Wilcoxon-Mann-Whitney. N= 9 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

A suplementação com a formulação HP β CD-Ang-(1-7) não resultou em alteração significativa nos níveis de glicose plasmática medidos antes e imediatamente após o teste de contrarrelógio (20km) entre as condições, no entanto a concentração de glicose ao final do teste de contrarrelógio foi significativamente maior para ambas condições HP β CD-Ang-(1-7) e HP β CD-Placebo em comparação com o pré teste, esse comportamento se repete para creatina quinase, no qual não existem diferenças entre as condições HP β CD-Ang-(1-7) e HP β CD-Placebo em nenhum dos tempos (pré, pós, 24h e 48h), porém a concentração de CK ao final do teste de contrarrelógio foi significativamente maior para ambas condições HP β CD-Ang-(1-7) e HP β CD-Placebo em comparação com o pré teste. Da mesma forma, a concentração de lactato no plasma não foi diferente entre as condições pré e pós. A concentração de lactato plasmático foi significativamente elevada para HP β CD-Ang-(1-7) e HP β CD-Placebo em comparação com os valores pré. Ademais, nenhuma diferença significativa foi observada na concentração de AGNEs entre as condições pré e pós.

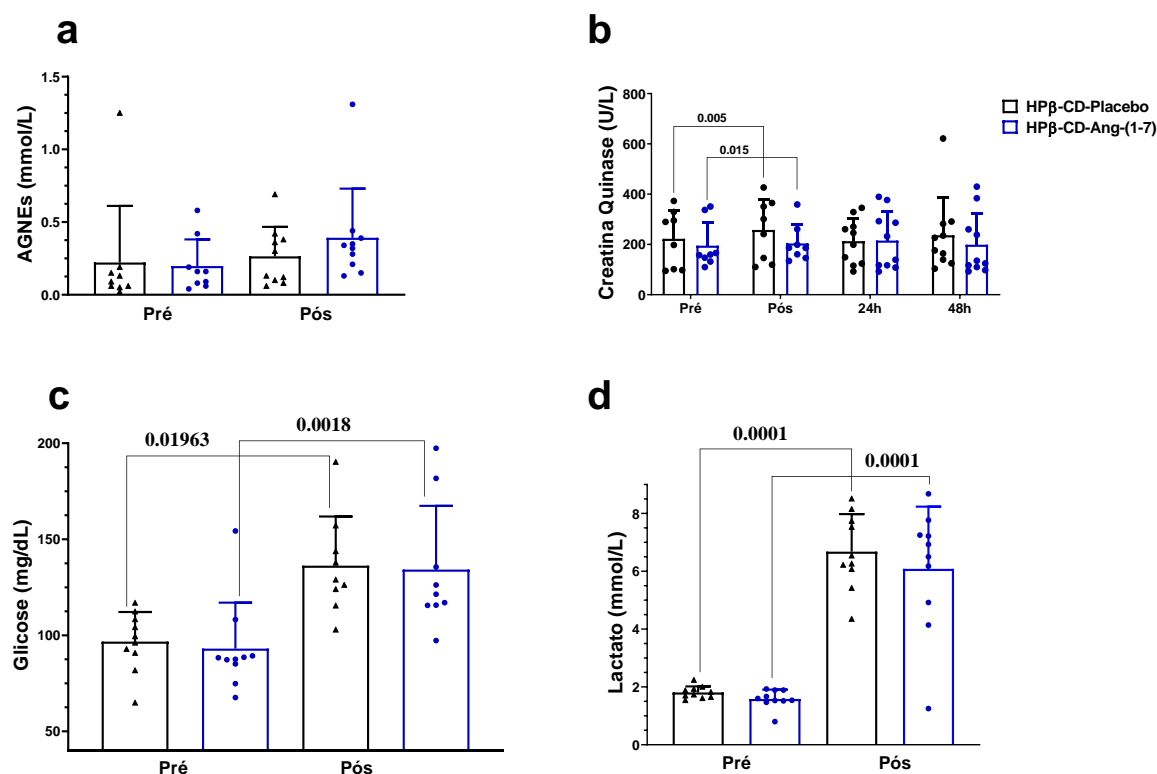


Figura 7. A) Ácidos graxos não esterificados (AGNEs) em milimoles por litro (mmol/L) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. pré :p=0,87; pós p=0,28. B) Creatina quinase em unidade por litro (U/L) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo: pré :p=0,74; pós p=0,24; 24h p=0,95 e 48h p=0,49 C) Glicose plasmática em miligrama por decilitro (mg/dL) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo. (intergrupos: pré: p=0,69; pós: p=0,72) (intragrupos: HP β CD-Ang-(1-7): p=0,019; HP β CD-Placebo: p=0,0018) D) lactato plasmático em milimoles por litro (mmol/L) na condição tratada HP β CD-Ang-(1-7) e Condição HP β CD-Placebo . (intergrupos: pré: p=0,11; pós: p=0,44) (intragrupos:

HP β CD-Ang-(1-7): $p=0,0001$; HP β CD-Placebo: $p=0,0001$). Sem diferenças estatísticas para análises em parâmetros bioquímicos em teste t pareado. N= 10 para todas análises. Fonte: Elaborado pelo autor.

6. DISCUSSÃO

Estudos envolvendo a Ang-(1-7) em humanos utilizando a formulação oral são pioneiros, em relação aos seus efeitos no rendimento físico, o nosso grupo é o primeiro a avaliar os possíveis resultados. O presente estudo utilizou 2mg da formulação oral de HP β CD-Ang-(1-7), e nesta dose não foram observadas diferenças significativas para as variáveis de rendimento físico, medidas de percepção do esforço físico: PSE e PSE da sessão e variáveis bioquímicas. Para as variáveis cardiovasculares, os resultados exibem uma diferença significativa na PAM e PAD de repouso, o mesmo não foi observado para PAS e FC de repouso e máxima.

A formulação HP β CD-Ang-(1-7) foi capaz de reduzir significativamente a PAM e PAD de repouso. Tais efeitos podem estar relacionados a um perfil anti-hipertensivos da Ang-(1-7), gerando interesses ao seu potencial papel cardioprotetor contra doenças cardíacas hipertensivas (PATEL; ZHONG; GRANT; OUDIT, 2016). Estudos clínicos em animais, tem apresentado fortemente indícios que esse heptapeptídeo parece desempenhar um papel importante na hemodinâmica regional e sistêmica (MEDINA; ARNOLD, 2019). Estudos em humanos são escassos para afirmar essa hipótese, há necessidade de pesquisas que visam compreender o efeito dessa formulação em indivíduos saudáveis a fim de promover tais benefícios cardioprotetores.

Estudos pré-clínicos em humanos observaram efeitos consideráveis por meio da administração oral de Ang-(1-7) em doses que variou entre 10 a 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (11 a 55 $\text{nmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$). No presente estudo utilizamos uma administração aproximadamente de 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Estes estudos demonstram que Ang-(1-7) reduz significativamente a vasoconstrição induzida por Ang II em artérias mamárias (MENDONÇA; MENDES-FERREIRA; BENTO-LEITE; CERQUEIRA *et al.*, 2014; ROKS; VAN GEEL; PINTO; BUIKEMA *et al.*, 1999). Ademais a administração de Ang-(1-7) promoveu vasodilatação de arteríolas adiposas e atriais de pacientes sem doença arterial coronariana, e efeitos atenuados em pacientes com doença arterial coronariana (DURAND; ZINKEVICH; RIEDEL; GUTTERMAN *et al.*, 2016).

Apoiando os achados, a Ang-(1-7) intrabraquial acarretou vasodilatação na circulação do antebraço de indivíduos normotensos e pacientes com hipertensão (SASAKI; HIGASHI; NAKAGAWA; MATSUURA *et al.*, 2001). Além disso, em um estudo conduzido em 22 homens normotensos saudáveis com infusões intra-arterial no antebraço, a Ang-(1-7)

antagoniza a vasoconstrição mediada pela angiotensina II em vasos resistentes, e poderia atuar como um antagonista endógeno da angiotensina II (UEDA; MASUMORI-MAEMOTO; WADA; ISHII *et al.*, 2001). Por fim, em um estudo recente, foi demonstrado que a infusão intrabraqüal de Ang-(1-7) em pacientes obesos, têm efeitos favoráveis não apenas para melhorar a vasodilatação dependente do endotélio estimulada por insulina, mas também para reduzir o tônus vasoconstritor dependente da endotelina-1 (SCHINZARI; TESAURO; VENEZIANI; MORES *et al.*, 2018).

Além dos efeitos cardioprotetores, a Ang-(1-7) poderia atuar em mecanismos centrais, participando de ações diretas em processos de estresse, aprendizagem, cognição e memória (ALBRECHT, 2007; FU; ZHAO; AYLOR; CAREY *et al.*, 2014; GIRONACCI, 2015; LAZARONI; RASLAN; FONTES; DE OLIVEIRA *et al.*, 2012; SANTOS; SAMPAIO; ALZAMORA; MOTTA-SANTOS *et al.*, 2018). Um dos principais mecanismos que modulam a atividade neuronal durante o exercício físico é o aumento da geração de óxido nítrico (ON). Dados na literatura mostram que a Ang-(1-7) possui um efeito importante na modulação do ON central (GIRONACCI; VATTA; RODRIGUEZ-FERMEPÍN; FERNÁNDEZ *et al.*, 2000).

Considerando este pressuposto teórico, foram avaliadas variáveis perceptivas de esforço físico, PSE e PSE da sessão de teste físico, a fim de compreender se a formulação seria capaz de reduzir o esforço percebido dos voluntários, contudo no presente estudo não foram encontradas diferenças entre as condições. Uma possível explicação para tal resultado pode estar relacionado ao tipo de teste, uma vez que o TT20km protocoliza a manutenção de uma carga fixa de 1,5kg, sendo esta considerado leve pelos atletas, deste modo, o estresse físico percebido neste tipo de teste não seria tão eficiente como em um teste incremental. Dado que, no presente estudo, a média da concentração lactato plasmática ao final do teste de TT20km foi de HPβCD-Placebo 6,67 mmol/L e HPβCD-Ang-(1-7) 6,08 mmol/L. Esses dados sugerem que os voluntários estariam no limiar e não foram requeridos no seu esforço máximo.

Em um estudo anterior, realizado em nosso laboratório (dados não publicados), em um teste progressivo até a fadiga voluntária, a formulação HPβCD-Ang-(1-7) foi capaz de reduzir significativamente a PSE. Os voluntários alcançaram uma média de concentração de lactato plasmático na condição HPβCD-Placebo de 11,35 mmol/L e na condição HPβCD-Ang-(1-7) 11,86 mmol/L, sugerindo que os voluntários estariam acima do limiar anaeróbico individual.

Estudos que investigaram a relação entre memória, aprendizagem, função cognitiva e os níveis de noradrenalina no sistema nervoso central durante o exercício, mostraram menores valores de noradrenalina no sistema nervoso central, estando relacionados com melhoria das

funções mencionadas anteriormente (DUNN; REIGLE; YOUNGSTEDT; ARMSTRONG et al., 1996; EBRAHIMI; RASHIDY-POUR; VAFAEI; AKHAVAN, 2010; SARBADHIKARI; SAHA, 2006). Um papel significativo da dopamina e noradrenalina no controle do desempenho físico também foi documentado durante o exercício em ambiente quente (MEEUSEN; WATSON; HASEGAWA; ROELANDS et al., 2006). A Ang-(1-7) por meio dos receptores Mas e AT2 promove redução na liberação central da monoamina noradrenalina (NA) de maneira dependente de BK/NO (GIRONACCI; VALERA; YUJNOVSKY; PENA, 2004; GIRONACCI; VATTA; RODRIGUEZ-FERMEPÍN; FERNÁNDEZ *et al.*, 2000). Tais efeitos podem ser devido a ligação da Ang-(1-7) aos receptores MAS e AT2, uma vez que em ratos normotensos e hipertensos promoveu uma redução na liberação de noradrenalina no hipotálamo de maneira dependente de bradicinina / ON pela via cíclica de monofosfato de guanosina (cGMP) / proteína quinase G (PKG) que, por sua vez, diminui a liberação de noradrenalina (GIRONACCI; VALERA; YUJNOVSKY; PENA, 2004; GIRONACCI; VATTA; RODRIGUEZ-FERMEPÍN; FERNÁNDEZ et al., 2000; TSUDA; NISHIO; GIRONACCI, 2005).

Hoje, já se sabe que a NA junto com outras monoaminas (serotonina e dopamina) em maiores concentrações estão associadas a um aumento da fadiga central, acarretando redução do desempenho físico (MEEUSEN; WATSON; HASEGAWA; ROELANDS *et al.*, 2006).

Estudos recentes com a Ang-(1-7) mostraram que a ação desse peptídeo acarreta em uma diminuição significativa nos déficits cognitivos induzidos por hipoperfusão cerebral crônica em ratos submetidos a oclusão bilateral permanente das artérias carótidas. Esse efeito neuroprotetor foi associado ao aumento da produção de ON, perda neuronal atenuada e proliferação de astrócitos suprimida no hipocampo (XIE; ZHU; JI; TIAN *et al.*, 2014), salientando que há um efeito importante da Ang-(1-7) na modulação central em parte mediada pelo ON.

Procurando avaliar essas informações, foi aplicada a tarefa de stroop, comumente utilizada para avaliar a atividade cognitiva que pode associar a fadiga mental (HUANG; GU; DENG; TSAI *et al.*, 2019). Sendo considerada uma avaliação clássica capaz de mensurar diversos aspectos da função cognitiva, incluindo velocidade de processamento de informações e atenção (HUANG; DENG; ZHENG; LIU, 2019), sendo também uma avaliação neuropsicológica recomendada em pesquisas sobre exercício e cognição (CHANG; CHU; WANG; SONG *et al.*, 2015). No presente estudo, nenhum efeito potencial da suplementação com HPβCD-Ang-(1-7) foi percebido na tarefa de stroop.

O eixo ECA 2/Ang-(1-7)/Mas possivelmente promove efeitos no rendimento esportivo visto que, induz a liberação de óxido nítrico (ON), por meio do aumento da atividade enzimática de eNOS (*endothelial nitric oxide synthase*). Bem como pela via de sinalização dependente da proteína AKT (também chamada proteína quinase B), aumentando a liberação de óxido nítrico endotelial, promovendo assim vasodilatação (SAMPAIO, WALKYRIA OLIVEIRA; SOUZA DOS SANTOS, ROBSON AUGUSTO; FARIA-SILVA, RAPHAEL; DA MATA MACHADO, LEONOR TAPIAS *et al.*, 2007). Além da liberação de ON, a Ang-(1-7) potencializa a ação da bradicinina (BK), outro potente vasodilatador (PAULA, RENATA D; LIMA, CELSO V; KHOSLA, MAHESH C; SANTOS, ROBSON AS 1995). A BK participa de maneira importante no rendimento físico através da sua interação com o ON. Esses dados sugerem fortemente que Ang-(1-7) pode recrutar a microvasculatura muscular e aumentar a área da superfície endotelial microvascular, o que leva ao aumento do fornecimento de nutrientes para a musculatura esquelética (FU; ZHAO; AYLOR; CAREY *et al.*, 2014).

As evidências indicam que, além das ações vasodilatadoras e centrais produzidas pela Ang-(1-7), têm sido evidenciado um papel fundamental no controle metabólico, principalmente no controle da glicose, pois ratos transgênicos com altos níveis de Ang-(1-7) circulante apresentam melhor tolerância à insulina e melhorou a captação de glicose estimulada por insulina (SANTOS; BRAGA; MARIO; PÔRTO *et al.*, 2010). No músculo, a infusão de Ang- (1-7) aumenta a captação de glicose por meio do receptor GLUT-4 (FU; ZHAO; AYLOR; CAREY *et al.*, 2014). Além disso, dados recentes de nosso grupo mostram que ratos transgênicos, que possuem níveis aumentados de Ang- (1-7) circulante (2,5 vezes), quando submetidos a exercícios extenuantes, apresentam menores variações de glicose plasmática e menor depleção de glicogênio hepático e muscular (BECKER; TOTOU; MOURA; KANGUSSU *et al.*, 2018). Recentemente, também foi demonstrado que em ratos saudáveis, uma sessão de exercício melhora a sensibilidade vascular à insulina por meio de Ang-(1-7) (GALLARDO-ORTÍZ; VILLALOBOS-MOLINA; ECHEVERRÍA-RODRÍGUEZ, 2020). Todavia, a suplementação com Ang-(1-7) não foi capaz de demonstrar diferenças significativas nos níveis plasmáticos de glicemia dos atletas de MTB submetidos ao protocolo de TT20km.

O sistema renina angiotensina (SRA) é agora reconhecido por desempenhar um papel importante em processos metabólicos lipídicos. Em um estudo conduzido em camundongos tratados com a formulação HP β CD-Ang-(1-7), foi observada uma melhora no metabolismo lipídico, redução no perfil pró-inflamatório e da deposição de gordura no fígado (FELTENBERGER; ANDRADE; PARAÍSO; BARROS *et al.*, 2013). Em outros estudos, a

atividade do eixo do receptor ACE2/Ang-(1-7)/Mas induziu perda de peso e diminuição da obesidade visceral (AZUSHIMA; OHKI; WAKUI; UNEDA et al., 2017; DE KLOET; KRAUSE; WOODS, 2010). Reforçando esses achados, ratos tratados com Ang- (1-7) apesar de apresentarem ingestão calórica semelhante, demonstraram redução na massa corporal e no tecido adiposo branco, uma elevação na massa do tecido adiposo marrom e expressão de proteína desacopladora (UCP-1 e UCP-3), sugerindo uma melhora no metabolismo global (BARBOSA; DE SOUSA; DE CASTRO; CARNEIRO et al., 2019). A Ang- (1-7) pode ter um efeito na diminuição dos níveis de expressão de mRNA em genes que codificam proteínas lipogênicas, como SREBP-1c (FELTENBERGER; ANDRADE; PARAÍSO; BARROS et al., 2013). Há evidências de que a Ang-(1-7) pode promover termogênese, manutenção do armazenamento e mobilização de lipídios (FELTENBERGER; ANDRADE; PARAÍSO; BARROS et al., 2013). Os dados apresentados indicam uma participação da Ang-(1-7) no metabolismo de lipídios.

Esses achados anteriormente apresentados fornecem uma hipótese fisiológica de que a administração de Ang-(1-7) poderia alterar a sensibilidade a captação de glicose durante o exercício físico e ainda aumentar a disponibilidade e ou oxidação de ácidos graxos livres, conseqüentemente haveria uma melhor eficiência metabólica global com maior rendimento físico. Sabe-se que o ciclismo é um esporte de resistência que depende principalmente da capacidade aeróbia para fornecer combustível durante eventos de ciclismo de longa duração (SHENOY; CHASKAR; SANDHU; PAADHI, 2012), a suplementação com Ang-(1-7) com seus mecanismos de ação pode ser um suplemento promissor para melhorar o desempenho nesta modalidade. Entretanto, considerando as evidências da atuação da Ang-(1-7) no metabolismo da musculatura esquelética, não foram observadas diferenças entre as condições HPβCD-Ang-(1-7) e HPβCD-Placebo nas análises bioquímicas de lactato, glicose e AGNEs.

Em contradição a hipótese do estudo, nenhuma mudança nas variáveis de desempenho físico foi observada no teste de contrarrelógio (20km), no entanto, deve ser apontado, que a suplementação com HPβ-CD-Ang-(1-7) foi capaz de promover uma redução, não significa, no tempo de execução do TT20km, cerca de um minuto, além de apresentar RPM, whatts máximo e médio, e velocidade maior em comparação a condição HPβCD-Placebo. É importante enfatizar que um achado anterior do nosso laboratório apresentou resultados significativos para o aumento no tempo total de exercício físico, consumo de oxigênio e eficiência mecânica, em um teste progressivo até a fadiga voluntária com a suplementação HPβCD-Ang-(1-7) em 14 atletas de MTB (dados não publicados).

Apesar de não apresentar efeito significativo direto nas variáveis examinadas, mudanças mínimas no desempenho de resistência aeróbia em indivíduos bem treinados é altamente representativo, a suplementação de HP β CD-Ang-(1-7) levou a um teste de contrarrelógio mais curto, cerca de um minuto, para o alto rendimento esse resultado é formidável. Competições mundiais de MTB são decididas na casa dos segundos. Estudos realizados em ciclistas, visando testar novos suplementos no aumento do rendimento, encontraram resultados similares, sendo que os autores não encontraram diferenças significativas, mas perceberam melhora em variáveis de rendimento (GARNACHO-CASTAÑO; PALAU-SALVÀ; CUENCA; MUÑOZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2018; OSBORNE; STEWART; BEAGLEY; BORG *et al.*, 2019).

Existem algumas incertezas quanto à relação dose-resposta, uma vez que a suplementação com formulação pode não ter sido suficiente para alterar os níveis plasmáticos de Ang-(1-7) e com isso um aumento da dose administrada possa ser um fator chave na detecção de melhorias, ou ainda o tipo de teste não foi o melhor para desafiar o metabolismo e ou gerar alterações metabólicas, análises durante uma competição poderia ser mais eficaz para obter resultados para a suplementação com a formulação HP β CD-Ang-(1-7).

Finalmente, embora o presente estudo não tenha mostrado que a suplementação com a formulação HP β CD-Ang-(1-7) pode melhorar o desempenho em um teste de contrarrelógio, investigações são necessárias para avaliar os possíveis efeitos da Ang-(1-7) no rendimento físico. Não existem estudos na literatura que relacionam Ang-(1-7) e rendimento físico em humanos, esse estudo é uma tentativa de preencher essa lacuna. Novas metodologias e dosagens precisam ser testadas em outros esportes e populações. A Ang-(1-7) apresenta fortes indícios que podem contribuir para uma maior eficiência dos aportes nutricionais sobre o desempenho e contribuição metabólica que podem ser apreciadas nos esportes de alto rendimento. Dados anteriores (MOTTA-SANTOS; DOS SANTOS; OLIVEIRA; QADRI *et al.*, 2016) e presentes (BECKER; TOTOU; MOURA; KANGUSSU *et al.*, 2018) sugerem que este peptídeo tem alguns efeitos no desempenho físico, porém estudos futuros são necessários para investigar os mecanismos envolvidos nesses efeitos.

O presente estudo apresenta algumas limitações, por exemplo, tamanho da amostra reduzido, incapacidade de realizar metodologias invasivas, orientações de um profissional de nutrição qualificado para garantir que eles seguissem uma dieta semelhante.

CONCLUSÃO

A suplementação com Ang-(1-7) não melhorou o desempenho físico de atletas de MTB em um protocolo de contrarrelógio, bem como em medidas de percepção do esforço físico: PSE e PSE da sessão e variáveis bioquímicas. Para as variáveis cardiovasculares, os resultados exibem uma diferença significativa na PAM e PAD de repouso, o mesmo não foi observado para PAS e FC de repouso e máxima.

FINANCIAMENTO

Este trabalho foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto e Fundação de Amparo em Pesquisa do Estado de Minas Gerais.

REFERÊNCIAS

ACUÑA, M. J.; PESSINA, P.; OLGUIN, H.; CABRERA, D. *et al.* Restoration of muscle strength in dystrophic muscle by angiotensin-1-7 through inhibition of TGF- β signalling. **Human molecular genetics**, 23, n. 5, p. 1237-1249, 2014.

ALBRECHT, D. Angiotensin-(1-7)-induced plasticity changes in the lateral amygdala are mediated by COX-2 and NO. **Learning memory**, 14, n. 3, p. 177-184, 2007.

ALMEIDA, J. A.; BOULLOSA, D. A.; PARDONO, E.; LIMA, R. M. *et al.* The influence of ACE genotype on cardiovascular fitness of moderately active young men. **Arq Bras Cardiol**, 98, n. 4, p. 315-320, Apr 2012.

ANSARI, M.; NOURIAN, R.; KHODAEI, M. Mountain biking injuries. **Current sports medicine reports**, 16, n. 6, p. 404-412, 2017.

AROOR, A. R.; DEMARCO, V.; JIA, G.; SUN, Z. *et al.* The role of tissue renin-angiotensin-aldosterone system in the development of endothelial dysfunction and arterial stiffness. **Frontiers in endocrinology**, 4, p. 161, 2013.

AVRILLON, S.; HUG, F.; GUILHEM, G. Bilateral differences in hamstring coordination in previously injured elite athletes. **Journal of Applied Physiology**, 2020.

BAILEY, S. J.; FULFORD, J.; VANHATALO, A.; WINYARD, P. G. *et al.* Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. **Journal of applied physiology**, 109, n. 1, p. 135-148, 2010.

BARRETT, A. J.; WOESSNER, J. F.; RAWLINGS, N. D. **Handbook of proteolytic enzymes**. Elsevier, 2012. 419-426 p. 0080984150.

BASTOS, A. C.; MAGALHÃES, G. S.; GREGÓRIO, J. F.; MATOS, N. A. *et al.* Oral formulation angiotensin-(1-7) therapy attenuates pulmonary and systemic damage in mice with emphysema induced by elastase. p. 151893, 2019.

BECKER, L. K.; TOTOU, N.; MOURA, S.; KANGUSSU, L. *et al.* Eccentric Overload Muscle Damage is Attenuated By a Novel Angiotensin-(1-7) Treatment. **Chinese Journal of Physiology**, 39, n. 10, p. 743-748, 2018.

BECKER, L. K.; TOTOU, N. L.; OLIVEIRA, M. F.; COELHO, D. B. *et al.* Lifetime overproduction of circulating angiotensin-(1-7) in rats attenuates the increase in skeletal muscle damage biomarkers after exhaustive exercise. **Chinese Journal of Physiology**, 62, n. 5, p. 226, 2019.

BENTER, I. F.; FERRARIO, C. M.; MORRIS, M.; DIZ, D. I. Antihypertensive actions of angiotensin-(1-7) in spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol**, 269, n. 1 Pt 2, p. H313-319, Jul 1995.

BERGER, A. J.; ALFORD, K. Cardiac arrest in a young man following excess consumption of caffeinated “energy drinks”. **The Medical Journal of Australia**, 190, n. 1, p. 41-43, 2009.

BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Med sci sports exerc**, 14, n. 5, p. 377-381, 1982.

BURR, J. F.; DRURY, C. T.; IVEY, A. C.; WARBURTON, D. E. Physiological demands of downhill mountain biking. **Journal of sports sciences**, 30, n. 16, p. 1777-1785, 2012.

CABELLO-VERRUGIO, C.; MORALES, M. G.; RIVERA, J. C.; CABRERA, D. *et al.* Renin-angiotensin system: an old player with novel functions in skeletal muscle. **Med Res Rev**, 35, n. 3, p. 437-463, May 2015.

CHANG, Y. K.; CHU, C. H.; WANG, C. C.; SONG, T. F. *et al.* Effect of acute exercise and cardiovascular fitness on cognitive function: An event-related cortical desynchronization study. **J Psychophysiology**, 52, n. 3, p. 342-351, 2015.

CHEUNG, K.; HUME, P. A.; MAXWELL, L. Delayed onset muscle soreness. **Sports medicine**, 33, n. 2, p. 145-164, 2003.

CISTERNAS, F.; MORALES, M. G.; MENESES, C.; SIMON, F. *et al.* Angiotensin-(1-7) decreases skeletal muscle atrophy induced by angiotensin II through a Mas receptor-dependent mechanism. **Clin Sci (Lond)**, 128, n. 5, p. 307-319, Mar 2015.

CLOSE, G. L.; SALE, C.; BAAR, K.; BERMON, S. *et al.* Nutrition for the prevention and treatment of injuries in track and field athletes. **International journal of sport nutrition exercise metabolism**, 29, n. 2, p. 189-197, 2019.

CORTI, R.; BINGGELI, C.; SUDANO, I.; SPIEKER, L. *et al.* Coffee acutely increases sympathetic nerve activity and blood pressure independently of caffeine content: role of habitual versus nonhabitual drinking. **Circulation**, 106, n. 23, p. 2935-2940, 2002.

DE ALMEIDA, D. V. P.; PEREIRA, N. K.; MOREIRA, D. A. R. Efeitos Cardiovasculares da Cafeína: Revisão de literatura/Cardiovascular Effects of Caffeine: Literature Review. **Revista Ciências em Saúde**, 3, n. 2, p. 78-92, 2013.

DE VRIES, L.; REITZEMA-KLEIN, C. E.; METER-ARKEMA, A.; VAN DAM, A. *et al.* Oral and pulmonary delivery of thioether-bridged angiotensin-(1-7). **Peptides**, 31, n. 5, p. 893-898, 2010.

DEL VALLE, E. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process biochemistry**, 39, n. 9, p. 1033-1046, 2004.

DIAS-PEIXOTO, M. F.; SANTOS, R. A.; GOMES, E. R.; ALVES, M. N. *et al.* Molecular mechanisms involved in the angiotensin-(1-7)/Mas signaling pathway in cardiomyocytes. **Hypertension**, 52, n. 3, p. 542-548, 2008.

DIBO, P.; MARAÑÓN, R. O.; CHANDRASHEKAR, K.; MAZZUFERI, F. *et al.* Angiotensin-(1-7) inhibits sodium transport via Mas receptor by increasing nitric oxide production in thick ascending limb. **Physiological reports**, 7, n. 5, p. e14015, 2019.

DONOGHUE, M.; HSIEH, F.; BARONAS, E.; GODBOUT, K. *et al.* A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. **Circ Res**, 87, n. 5, p. E1-9, Sep 2000.

DURAND, M. J.; ZINKEVICH, N. S.; RIEDEL, M.; GUTTERMAN, D. D. *et al.* Vascular actions of angiotensin 1-7 in the human microcirculation: novel role for telomerase. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, 36, n. 6, p. 1254-1262, 2016.

DURKALEC-MICHALSKI, K.; NOWACZYK, P. M.; GŁÓWKA, N.; GRYGIEL, A. Dose-dependent effect of caffeine supplementation on judo-specific performance and training activity: a randomized placebo-controlled crossover trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, 16, n. 1, p. 38, 2019.

FELTENBERGER, J. D.; ANDRADE, J. M. O.; PARAÍSO, A.; BARROS, L. O. *et al.* Oral formulation of angiotensin-(1-7) improves lipid metabolism and prevents high-fat diet-induced hepatic steatosis and inflammation in mice. **Hypertension**, 62, n. 2, p. 324-330, 2013.

FERNANDES, T.; HASHIMOTO, N. Y.; MAGALHAES, F. C.; FERNANDES, F. B. *et al.* Aerobic exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves regulatory MicroRNAs, decreased angiotensin-converting enzyme-angiotensin II, and synergistic regulation of angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7). **Hypertension**, 58, n. 2, p. 182-189, 2011.

FERRARIO, C. M.; IYER, S. N. Angiotensin-(1-7): a bioactive fragment of the renin-angiotensin system. **Regul Pept**, 78, n. 1-3, p. 13-18, Nov 30 1998.

FERRARIO, C. M.; STRAWN, W. B. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and proinflammatory mediators in cardiovascular disease. **The American journal of cardiology**, 98, n. 1, p. 121-128, 2006.

FERREIRA, A. J.; SANTOS, R. A. Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7). **Braz J Med Biol Res**, 38, n. 4, p. 499-507, Apr 2005.

FILHO, A. G.; FERREIRA, A. J.; SANTOS, S. H. S.; NEVES, S. R. *et al.* Selective increase of angiotensin (1-7) and its receptor in hearts of spontaneously hypertensive rats subjected to physical training. **Experimental physiology**, 93, n. 5, p. 589-598, 2008.

FOSTER, C.; FLORHAUG, J. A.; FRANKLIN, J.; GOTTSCHALL, L. *et al.* A new approach to monitoring exercise training. **The Journal of Strength Conditioning Research**, 15, n. 1, p. 109-115, 2001.

FRAGA-SILVA, R. A.; COSTA-FRAGA, F. P.; SOUSA, F. B. D.; ALENINA, N. *et al.* An orally active formulation of angiotensin-(1-7) produces an antithrombotic effect. **Clinics**, 66, n. 5, p. 837-841, 2011.

FU, Z.; ZHAO, L.; AYLOR, K. W.; CAREY, R. M. *et al.* Angiotensin-(1-7) recruits muscle microvasculature and enhances insulin's metabolic action via mas receptor. **Hypertension**, 63, n. 6, p. 1219-1227, 2014.

FYHRQUIST, F.; SAIJONMAA, O. Renin-angiotensin system revisited. **Journal of internal medicine**, 264, n. 3, p. 224-236, 2008.

GALLARDO-ORTÍZ, I. A.; VILLALOBOS-MOLINA, R.; ECHEVERRÍA-RODRÍGUEZ, O. Potential role of angiotensin-(1-7) in the improvement of vascular insulin sensitivity after a bout of exercise. **Experimental Physiology**, 105, n. 4, p. 600-605, 2020.

GANIO, M. S.; KLAU, J. F.; CASA, D. J.; ARMSTRONG, L. E. *et al.* Effect of caffeine on sport-specific endurance performance: a systematic review. **The Journal of Strength Conditioning Research**, 23, n. 1, p. 315-324, 2009.

GARG, K.; CORONA, B. T.; WALTERS, T. Losartan administration reduces fibrosis but hinders functional recovery after volumetric muscle loss injury. **Journal of Applied Physiology**, 117, n. 10, p. 1120-1131, 2014.

GARNACHO-CASTAÑO, M. V.; PALAU-SALVÀ, G.; CUENCA, E.; MUÑOZ-GONZÁLEZ, A. *et al.* Effects of a single dose of beetroot juice on cycling time trial performance at ventilatory thresholds intensity in male triathletes. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, 15, n. 1, p. 49, 2018.

GIRONACCI, M. M. Angiotensin-(1-7): beyond its central effects on blood pressure. **Therapeutic advances in cardiovascular disease**, 9, n. 4, p. 209-216, 2015.

GIRONACCI, M. M.; VALERA, M. a. S.; YUJNOVSKY, I.; PENA, C. Angiotensin-(1-7) inhibitory mechanism of norepinephrine release in hypertensive rats. **Hypertension**, 44, n. 5, p. 783-787, 2004.

GIRONACCI, M. M.; VATTA, M.; RODRIGUEZ-FERMEPÍN, M. n.; FERNÁNDEZ, B. E. *et al.* Angiotensin-(1-7) reduces norepinephrine release through a nitric oxide mechanism in rat hypothalamus. **Hypertension**, 35, n. 6, p. 1248-1252, 2000.

GRANIER, C.; ABBISS, C. R.; AUBRY, A.; VAUCHEZ, Y. *et al.* Power output and pacing during international cross-country mountain bike cycling. **International journal of sports physiology performance**, 13, n. 9, p. 1243-1249, 2018.

HO, C.-S.; LEE, M.-C.; CHANG, C.-Y.; CHEN, W.-C. *et al.* Beneficial effects of a negative ion patch on eccentric exercise-induced muscle damage, inflammation, and exercise performance in badminton athletes. **Chinese Journal of Physiology**, 63, n. 1, p. 35, 2020.

HUANG, L.; DENG, Y.; ZHENG, X.; LIU, Y. Transcranial direct current stimulation with halo sport enhances repeated sprint cycling and cognitive performance. **Frontiers in physiology**, 10, p. 118, 2019.

HUANG, T.; GU, Q.; DENG, Z.; TSAI, C. *et al.* Executive Function Performance in Young Adults When Cycling at an Active Workstation: An fNIRS Study. **International journal of environmental research public health**, 16, n. 7, p. 1119, 2019.

IMPELLIZZERI, F. M.; MARCORÀ, S. M. The physiology of mountain biking. **Sports medicine**, 37, n. 1, p. 59-71, 2007.

IRIE, T.; UEKAMA, K. Cyclodextrins in peptide and protein delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 36, n. 1, p. 101-123, 1999.

IWATA, M.; COWLING, R. T.; GURANTZ, D.; MOORE, C. *et al.* Angiotensin-(1-7) binds to specific receptors on cardiac fibroblasts to initiate antifibrotic and antitrophic effects. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 289, n. 6, p. H2356-2363, Dec 2005.

KERKSICK, C. M.; WILBORN, C. D.; ROBERTS, M. D.; SMITH-RYAN, A. *et al.* ISSN exercise & sports nutrition review update: research & recommendations. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, 15, n. 1, p. 38, 2018.

KERRIGAN, S.; LINDSEY, T. Fatal caffeine overdose: two case reports. **Forensic science international**, 153, n. 1, p. 67-69, 2005.

KREIDER, R. Effects of protein and amino acid supplementation on athletic performance. **Sports science**, 3, n. 1, 1999.

LARSEN, F.; WEITZBERG, E.; LUNDBERG, J.; EKBLÖM, B. Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. **Acta physiologica**, 191, n. 1, p. 59-66, 2007.

LAURENT, D.; SCHNEIDER, K. E.; PRUSACZYK, W. K.; FRANKLIN, C. *et al.* Effects of caffeine on muscle glycogen utilization and the neuroendocrine axis during exercise. **The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, 85, n. 6, p. 2170-2175, 2000.

LAZARONI, T. L.; RASLAN, A. C. S.; FONTES, W. R.; DE OLIVEIRA, M. L. *et al.* Angiotensin-(1-7)/Mas axis integrity is required for the expression of object recognition memory. **Neurobiology of learning memory**, 97, n. 1, p. 113-123, 2012.

LÓPEZ-GONZÁLEZ, L. M.; SÁNCHEZ-OLIVER, A. J.; MATA, F.; JODRA, P. *et al.* Acute caffeine supplementation in combat sports: a systematic review. **Journal of the international society of sports nutrition**, 15, n. 1, p. 60, 2018.

LULA, I.; DENADAI, Â. L.; RESENDE, J. M.; DE SOUSA, F. B. *et al.* Study of angiotensin-(1-7) vasoactive peptide and its β -cyclodextrin inclusion complexes: complete sequence-specific NMR assignments and structural studies. **Peptides**, 28, n. 11, p. 2199-2210, 2007.

MARQUES, F. D.; FERREIRA, A. J.; SINISTERRA, R. D.; JACOBY, B. A. *et al.* An oral formulation of angiotensin-(1-7) produces cardioprotective effects in infarcted and isoproterenol-treated rats. 57, n. 3, p. 477-483, 2011.

MARQUES, F. D.; MELO, M. B.; SOUZA, L. E.; IRIGOYEN, M. C. C. *et al.* Beneficial effects of long-term administration of an oral formulation of Angiotensin-(1-7) in infarcted rats. **International journal of hypertension**, 2012, 2012.

MAUGHAN, R. J.; BURKE, L. M.; DVORAK, J.; LARSON-MEYER, D. E. *et al.* IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. **International journal of sport nutrition exercise metabolism**, 28, n. 2, p. 104-125, 2018.

MCCOLLUM, L. T.; GALLAGHER, P. E.; TALLANT, E. A. Angiotensin-(1-7) abrogates mitogen-stimulated proliferation of cardiac fibroblasts. **Peptides**, 34, n. 2, p. 380-388, Apr 2012.

MCLELLAN, T. M.; BELL, D. G. The impact of prior coffee consumption on the subsequent ergogenic effect of anhydrous caffeine. **International journal of sport nutrition exercise metabolism**, 14, n. 6, p. 698-708, 2004.

MEDINA, D.; ARNOLD, A. C. Angiotensin-(1-7): translational avenues in cardiovascular control. **American journal of hypertension**, 32, n. 12, p. 1133-1142, 2019.

MEEUSEN, R.; WATSON, P.; HASEGAWA, H.; ROELANDS, B. *et al.* Central fatigue. **Sports Medicine**, 36, n. 10, p. 881-909, 2006.

MENDONÇA, L.; MENDES-FERREIRA, P.; BENTO-LEITE, A.; CERQUEIRA, R. *et al.* Angiotensin-(1-7) modulates angiotensin II-induced vasoconstriction in human mammary artery. **Cardiovascular drugs therapy**, 28, n. 6, p. 513-522, 2014.

MENESES, C.; MORALES, M. G.; ABRIGO, J.; SIMON, F. *et al.* The angiotensin-(1-7)/Mas axis reduces myonuclear apoptosis during recovery from angiotensin II-induced skeletal muscle atrophy in mice. **Pflugers Arch**, 467, n. 9, p. 1975-1984, Sep 2015.

MJØS, I.; THORSEN, E.; HAUSKEN, T.; LIED, E. *et al.* The effect of low dose marine protein hydrolysates on short-term recovery after high intensity performance cycling: a double-blinded crossover study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, 16, n. 1, p. 48, 2019.

MOLINA, G. E.; ROCCO, G. F.; FONTANA, K. E. Desempenho da potência anaeróbia em atletas de elite do mountain bike submetidos à suplementação aguda com creatina. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 15, n. 5, p. 374-377, 2009.

MORALES, M. G.; ABRIGO, J.; ACUÑA, M. J.; SANTOS, R. A. *et al.* Angiotensin-(1-7) attenuates disuse skeletal muscle atrophy in mice via its receptor, Mas. **Disease models & mechanisms**, 9, n. 4, p. 441-449, 2016.

MORALES, M. G.; ABRIGO, J.; MENESES, C.; CISTERNAS, F. *et al.* Expression of the Mas receptor is upregulated in skeletal muscle wasting. **Histochemistry**, 143, n. 2, p. 131-141, 2015.

MOTTA-SANTOS, D.; DOS SANTOS, R. A. S.; OLIVEIRA, M.; QADRI, F. *et al.* Effects of ACE2 deficiency on physical performance and physiological adaptations of cardiac and skeletal muscle to exercise. **Hypertension Research**, 39, n. 7, p. 506, 2016.

MURRAY, K. O.; PARIS, H. L.; FLY, A. D.; CHAPMAN, R. F. *et al.* Carbohydrate mouth rinse improves cycling time-trial performance without altering plasma insulin concentration. **Journal of sports science medicine**, 17, n. 1, p. 145, 2018.

OSBORNE, J. O.; STEWART, I. B.; BEAGLEY, K. W.; BORG, D. N. *et al.* Acute glutamine supplementation does not improve 20-km self-paced cycling performance in the heat. **European Journal of Applied Physiology**, 119, n. 11-12, p. 2567-2578, 2019.

PATEL, V. B.; ZHONG, J.-C.; GRANT, M. B.; OUDIT, G. Y. Role of the ACE2/angiotensin 1–7 axis of the renin–angiotensin system in heart failure. **Circulation research**, 118, n. 8, p. 1313-1326, 2016.

PAULA, R. D.; LIMA, C. V.; KHOSLA, M. C.; SANTOS, R. A. Angiotensin-(1-7) potentiates the hypotensive effect of bradykinin in conscious rats. **Hypertension**, 26, n. 6 Pt 2, p. 1154-1159, Dec 1995.

PAULA, R. D.; LIMA, C. V.; KHOSLA, M. C.; SANTOS, R. A. Angiotensin-(1-7) potentiates the hypotensive effect of bradykinin in conscious rats. **J Hypertension**, 26, n. 6, p. 1154-1159, 1995.

PEACH, M. J. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. **Physiological reviews**, 57, n. 2, p. 313-370, 1977.

PELCHOVITZ, D. J.; GOLDBERGER, J. J. Caffeine and cardiac arrhythmias: a review of the evidence. **The American journal of medicine**, 124, n. 4, p. 284-289, 2011.

PETTY, W. J.; MILLER, A. A.; MCCOY, T. P.; GALLAGHER, P. E. *et al.* Phase I and pharmacokinetic study of angiotensin-(1-7), an endogenous antiangiogenic hormone. **Clinical Cancer Research**, 15, n. 23, p. 7398-7404, 2009.

PROENÇA, J. K. **Estudo clínico (FASE1) da farmacocinética e tolerabilidade de uma nova formulação oral do peptídeo angiotensina-(1-7) incluído em HP-beta-ciclodextrina em voluntários saudáveis.** Orientador: FÓSCOLO, R. B. 2016. Mestrado Profissional - Inovação Tecnológica Intelectual - Instituto de Ciências Biológicas Universidade Federal de Minas Gerais.

PUTHUCHEARY, Z.; SKIPWORTH, J. R.; RAWAL, J.; LOOSEMORE, M. *et al.* The ACE gene and human performance: 12 years on. **Sports Med**, 41, n. 6, p. 433-448, Jun 1 2011.

RIGAT, B.; HUBERT, C.; ALHENC-GELAS, F.; CAMBIEN, F. *et al.* An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **J Clin Invest**, 86, n. 4, p. 1343-1346, Oct 1990.

RIQUELME, C.; ACUÑA, M. J.; TORREJÓN, J.; REBOLLEDO, D. *et al.* ACE2 is augmented in dystrophic skeletal muscle and plays a role in decreasing associated fibrosis. **PLoS One**, 9, n. 4, 2014.

ROKS, A. J.; VAN GEEL, P. P.; PINTO, Y. M.; BUIKEMA, H. *et al.* Angiotensin-(1–7) is a modulator of the human renin-angiotensin system. **Hypertension**, 34, n. 2, p. 296-301, 1999.

SAMPAIO, W. O.; SOUZA DOS SANTOS, R. A.; FARIA-SILVA, R.; DA MATA MACHADO, L. T. *et al.* Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. **Hypertension**, 49, n. 1, p. 185-192, Jan 2007.

SAMPAIO, W. O.; SOUZA DOS SANTOS, R. A.; FARIA-SILVA, R.; DA MATA MACHADO, L. T. *et al.* Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. **J Hypertension**, 49, n. 1, p. 185-192, 2007.

SANTOS, R. A. Angiotensin-(1-7). **Hypertension**, 63, n. 6, p. 1138-1147, 2014.

SANTOS, R. A.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; ANDRADE, S. P. Angiotensin-(1-7): an update. **Regul Pept**, 91, n. 1-3, p. 45-62, Jul 28 2000.

SANTOS, R. A.; E SILVA, A. C. S.; MARIC, C.; SILVA, D. M. *et al.* Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 100, n. 14, p. 8258-8263, 2003.

SANTOS, R. A. S.; OUDIT, G. Y.; VERANO-BRAGA, T.; CANTA, G. *et al.* The renin-angiotensin system: going beyond the classical paradigms. **American Journal of Physiology-Heart Circulatory Physiology**, 316, n. 5, p. H958-H970, 2019.

SANTOS, R. A. S.; SAMPAIO, W. O.; ALZAMORA, A. C.; MOTTA-SANTOS, D. *et al.* The ACE2/angiotensin-(1-7)/MAS axis of the renin-angiotensin system: focus on angiotensin-(1-7). **Physiological reviews**, 98, n. 1, p. 505-553, 2018.

SANTOS, S. H. S.; BRAGA, J. F.; MARIO, E. G.; PÔRTO, L. C. J. *et al.* Improved lipid and glucose metabolism in transgenic rats with increased circulating angiotensin-(1-7). **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, 30, n. 5, p. 953-961, 2010.

SASAKI, S.; HIGASHI, Y.; NAKAGAWA, K.; MATSUURA, H. *et al.* Effects of angiotensin-(1-7) on forearm circulation in normotensive subjects and patients with essential hypertension. **Hypertension**, 38, n. 1, p. 90-94, 2001.

SCHINZARI, F.; TESAURO, M.; VENEZIANI, A.; MORES, N. *et al.* Favorable vascular actions of angiotensin-(1-7) in human obesity. **Hypertension**, 71, n. 1, p. 185-191, 2018.

SHENOY, S.; CHASKAR, U.; SANDHU, J. S.; PAADHI, M. M. Effects of eight-week supplementation of Ashwagandha on cardiorespiratory endurance in elite Indian cyclists. **Ayurveda Integr Med.**, 3, n. 4, p. 209, 2012.

SMITH, J. C.; STEPHENS, D. P.; HALL, E. L.; JACKSON, A. W. *et al.* Effect of oral creatine ingestion on parameters of the work rate-time relationship and time to exhaustion in high-intensity cycling. **European journal of applied physiology occupational physiology**, 77, n. 4, p. 360-365, 1998.

SÖKMEN, B.; ARMSTRONG, L. E.; KRAEMER, W. J.; CASA, D. J. *et al.* Caffeine use in sports: considerations for the athlete. **The Journal of Strength Conditioning Research**, 22, n. 3, p. 978-986, 2008.

SPRIET, L.; MACLEAN, D.; DYCK, D.; HULTMAN, E. *et al.* Caffeine ingestion and muscle metabolism during prolonged exercise in humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology Metabolism**, 262, n. 6, p. E891-E898, 1992.

STOET, G. PsyToolkit: A software package for programming psychological experiments using Linux. **J Behavior Research Methods**, 42, n. 4, p. 1096-1104, 2010.

STOET, G. PsyToolkit: A novel web-based method for running online questionnaires and reaction-time experiments. **J Teaching of Psychology**, 44, n. 1, p. 24-31, 2017.

STROOP, J. R. Studies of interference in serial verbal reactions. **Journal of Experimental Psychology: General**, 121, n. 1, p. 15, 1992.

SUKUMARAN, V.; VEERAVEEDU, P.; GURUSAMY, N.; LAKSHMANAN, A. *et al.* Telmisartan acts through the modulation of ACE-2/ANG 1-7/mas receptor in rats with dilated cardiomyopathy induced by experimental autoimmune myocarditis. **Life Sci.**, 90, p. 289-300, 2012.

TALLANT, E. A.; FERRARIO, C. M.; GALLAGHER, P. E. Angiotensin-(1-7) inhibits growth of cardiac myocytes through activation of the mas receptor. **American Journal of Physiology-Heart Circulatory Physiology**, 289, n. 4, p. H1560-H1566, 2005.

TE RIET, L.; VAN ESCH, J. H.; ROKS, A. J.; VAN DEN MEIRACKER, A. H. *et al.* Hypertension: renin-angiotensin-aldosterone system alterations. **Circulation research**, 116, n. 6, p. 960-975, 2015.

TIPNIS, S. R.; HOOPER, N. M.; HYDE, R.; KARRAN, E. *et al.* A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. **J Biol Chem**, 275, n. 43, p. 33238-33243, Oct 2000.

TOTOU, N. L. **UTILIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO HP β -CD ANGIOTENSINA-(1-7) COMO ESTRATÉGIA DE TRATAMENTO PREVENTIVO DAS LESÕES MUSCULARES PÓS-EXERCÍCIO FÍSICO**. 2016. 56 f. - Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto.

UEDA, S.; MASUMORI-MAEMOTO, S.; WADA, A.; ISHII, M. *et al.* Angiotensin (1-7) potentiates bradykinin-induced vasodilatation in man. **Journal of hypertension**, 19, n. 11, 2001.

VAN DUINEN, H.; LORIST, M. M.; ZIJDEWIND, I. The effect of caffeine on cognitive task performance and motor fatigue. **Psychopharmacology**, 180, n. 3, p. 539-547, 2005.

WHITSETT, T. L.; MANION, C. V.; CHRISTENSEN, H. D. Cardiovascular effects of coffee and caffeine. **The American journal of cardiology**, 53, n. 7, p. 918-922, 1984.

WU, C.; LU, H.; CASSIS, L. A.; DAUGHERTY, A. Molecular and pathophysiological features of angiotensinogen: a mini review. **North American journal of medicine science**, 4, n. 4, p. 183, 2011.

XIE, W.; ZHU, D.; JI, L.; TIAN, M. *et al.* Angiotensin-(1-7) improves cognitive function in rats with chronic cerebral hypoperfusion. **Brain research**, 1573, p. 44-53, 2014.

ZAJĄC, A.; CHALIMONIUK, M.; GOŁAŚ, A.; LINGFORT, J. *et al.* Central and peripheral fatigue during resistance exercise—A critical review. **Journal of human kinetics**, 49, n. 1, p. 159-169, 2015.

ZHANG, F.; TANG, H.; SUN, S.; LUO, Y. *et al.* Angiotensin-(1-7) induced vascular relaxation in spontaneously hypertensive rats. **Nitric Oxide**, 88, p. 1-9, 2019.

APÊNDICE

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (DE ACORDO COM O ITEM IV DA RESOLUÇÃO 196/96 DO CNS)

Através do TCLE gostaria de convidá-lo à participar do projeto de pesquisa “**Angiotensina-(1-7) como novo suplemento ergogênico para praticantes de exercício físico**”, o mesmo tem objetivo de avaliar o efeito do tratamento com a formulação oral H β CD-Angiotensina-(1-7) na melhora do rendimento físico de atletas e praticantes de exercícios físicos.

Procedimentos

Os participantes que interessar a participar da pesquisa devem ser submetidos a uma avaliação médica prévia para avaliar se o mesmo está apto a participar do projeto e realizar os testes propostos. Em seguida será agendado uma data eletiva na qual deverá comparecer ao laboratório de Fisiologia do Exercício da Universidade Federal de Ouro Preto para a realização de uma bateria de testes físicos para a determinação da capacidade aeróbia e anaeróbica através de um teste de ergoespirométrico que ocorrerá em um ciclo ergômetro de pernas em um teste (TT20km-*contra relógio* e *Wingate*). Você como voluntário convidado deverá fazer o uso oral da H β P-CD-Angiotensina- (1-7) (3g) e H β P-CD-Placebo, 3 horas antes dos testes com sete dias de intervalo entre as condições. O delineamento do estudo se apresenta de forma randomizada duplo cego cross over, desta forma se o voluntário iniciar na condição placebo após 7 dias ele retornará na condição contrária. Este suplemento é constituído por aminoácidos e o próprio organismo produz, não oferece nenhum risco a sua saúde, pois o mesmo já foi administrado em doses maiores (700 μ g/kg) sem riscos ao indivíduo, considerando que é menor do que a dose que apresentou toxicidade.

Confidencialidade dos dados

As informações obtidas durante o teste serão tratadas de forma restrita e confidencial. Os dados da pesquisa serão armazenados pelo coordenador da pesquisa (Professora Dr. Lenice Kappes Becker) em computadores do Laboratório de Fisiologia do Exercício (Sala 24) do Centro Desportivo da Universidade Federal de Ouro Preto (CEDUFOP), e as amostras de sangue e urina serão armazenadas em um freezer no mesmo local, ambos armazenados por um período máximo de 5 anos. Os dados não serão liberados ou revelados para mais nenhuma pessoa a não ser os responsáveis pela análise e escrita dos resultados. As informações obtidas serão publicadas por meio de defesa pública de dissertação de mestrado e posteriormente publicadas em revistas científicas da área da saúde. Pode estar certo que sua privacidade e

anonimato serão garantidos. Os dados e a identidade dos voluntários serão mantidos sobre sigilo.

Crítérios de inclusão

Atletas e praticantes de exercício físico envolvido em seu programa de treinamento á pelo menos um ano.

Crítérios de exclusão

Os critérios de exclusão serão: 1) ser maior de 18 anos, 2) por livre e espontânea vontade do voluntário; 3) não comparecimento na bateria de testes físicos no dia e hora programados; 4) apresentar algum tipo de enfermidade que comprometa a coleta dos dados; 5) indivíduos com qualquer tipo de patologia; 6) fumantes; 7) façam uso de medicamentos como anti-inflamatórios e antibióticos e/ou outros que possam comprometer dados da pesquisa; 8) bem como suplementos que interferem nos parâmetros cardiovasculares como (cafeína e guaraná).

Coleta Sanguínea

Alíquotas de sangue serão retiradas por um profissional flebótomista capacitado, através de punção venosa padrão técnica a partir da veia antecubital. Aproximadamente 12 ml de amostras de sangue serão colhidas em tubos vacutainers contendo heparina, soro ou EDTA. O voluntário poderá apresentar certo desconforto pelas punções sanguíneas que ocorrerá antes, após, 24, 48 e 72h após a bateria de testes (em média, serão realizadas 10 punções durante todo delineamento do estudo).

Riscos esperados

Dores musculares tardias, ou sensação de cansaço, em decorrência da realização do teste no cicloergométrico de pernas que podem desaparecer entre 2 e 5 dias. Riscos gerais que envolvem a prática de atividade física devem ser considerados como lesões musculoesqueléticas. Entretanto, o voluntário realizará uma atividade física em condições conhecidas, com toda assistência necessária se for o caso. Hematomas que podem aparecer no local da coleta de sangue. Porém, a coleta de sangue será realizada por um profissional flebótomista treinado sob condições de segurança que minimizam os riscos para a realização deste projeto.

Benefícios esperados

Os benefícios serão de forma direta, obter informação sobre a demanda fisiológica imposta ao seu organismo em decorrência do teste de esforço físico aeróbico e anaeróbico e parâmetros de recuperação pós-teste e entrega gratuita da avaliação física com todos os parâmetros coletados durante a bateria de testes físico realizado pelo voluntário, e de forma indireta, pois esta pesquisa ajudará na compreensão de mecanismos importantes associados aos benefícios do tratamento com a formulação H β P-CD-Angiotensina-(1-7) como um possível suplemento sem efeitos colaterais.

Eventuais despesas médicas

Está previsto pagamento de eventuais despesas médicas para os voluntários. Todas as despesas especificamente relacionadas com o estudo são de responsabilidade dos pesquisadores. Caso ocorra algum dano decorrente a pesquisa fica a garantia de indenização e ressarcimento. Quaisquer despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes (como por exemplo transporte) e demais informadas pelo voluntário será reembolsado pelos pesquisadores do estudo.

Remuneração ao voluntário

Não está prevista qualquer forma de remuneração ou pagamento ao voluntário participante da pesquisa.

Dúvidas e possíveis questionamentos

Você dispõe de total liberdade para esclarecer questões que possam surgir durante o andamento da pesquisa. Qualquer dúvida, por favor, entre em contato com os pesquisadores responsáveis pelo estudo: Lenice Kappes Becker, tel: (31) 9 8897-6327; Samara Silva de Moura, tel: (31) 9 9301-3766; Francisco de Assis Dias Martins Junior, tel: (31) 9 9344-0573.

Suspensão da pesquisa

Você poderá recusar-se a participar deste estudo e/ou abandona-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar. Você também deve compreender que os pesquisadores podem decidir sobre a sua exclusão do estudo por razões científicas, sobre as quais você será devidamente informado.

Contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto

Segue também o contato do comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Ouro preto: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Universitário – Morro do Cruzeiro, na Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, ICEB - Ouro Preto (MG), ou pelo telefone (31) 3559-1368, e-mail: cep.propp@ufop.edu.br sempre que desejar sanar dúvidas éticas. Uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Livre Consentimento:

Concordo com todo o que foi exposto acima e, voluntariamente, aceito participar deste estudo, que será realizado no Laboratório de Fisiologia do Exercício da Universidade Federal de Ouro Preto.

Ouro Preto _____ de _____ de 2019

Assinatura do Voluntário

Pesquisador

ANEXOS

ANEXO A – PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO (PSE)

PERCEPÇÃO SUBJETIVA DA SESSÃO (SPSE)

ESCALA DE BORG ADAPTADA PERCEPÇÃO DE ESFORÇO		
0	REPOUSO	
1	DEMASIADO LEVE	
2	MUITO LEVE	
3	MUITO LEVE-LEVE	
4	LEVE	
5	LEVE-MODERADO	
6	MODERADO	
7	MODERADO-INTENSO	
8	INTENSO	
9	MUITO INTENSO	
10	EXAUSTIVO	

