

EFICÁCIA ANTIFADIGA DA CROCINA EM CAMUNDONGOS POR MEIO DE REGULAÇÃO DE ESTRESSE OXIDATIVO MEDIADA PELA VIA NRF-2/HO-1

ANTI-FATIGUE EFFICACY OF CROCIN IN MICE VIA REGULATION OF NRF-2/HO-1 PATHWAY-MEDIATED OXIDATIVE STRESS

EFICACIA ANTIFATIGA DE LA CROCINA EN RATONES A TRAVÉS DE LA REGULACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO MEDIADA POR LA VÍA NRF-2/HO-1

Liu Ming¹ 
(Geneticista)

Liu Xianchu^{2,3} 
(Geneticista)

Li Sha² 
(Profissional de Educação Física)

Peng Huan⁴ 
(Laboratório de Ciências Médicas)

1. Universidade de Artes e Ciências de Hunan, Faculdade de Furong, 415000, Changde, China.
2. Universidade de Artes e Ciências de Hunan, 415000, Changde, China.
3. Universidade Normal de Hunan, Changsha, 410081, Hunan, China.
4. Hospital de Xiangya Changde, Changde, 415000, Hunan, China.

Correspondência:

Liu Xianchu
Changde, 415000, Hunan, China.
liuxc645@163.com

RESUMO

Introdução: A fadiga é uma manifestação de um estado de saúde inferior, que causa efeitos negativos graves na vida diária. As propriedades antioxidantes da crocina foram amplamente investigadas em muitas doenças. No entanto, nenhuma correlação entre crocina e fadiga foi relatada. **Objetivo:** Verificar a eficácia antifadiga da crocina com relação ao tempo de exaustão induzido pela natação. **Materiais e métodos:** Neste estudo, os camundongos foram tratados com crocina por 28 dias para avaliar sua eficácia antifadiga. Tempo de exaustão, índices bioquímicos relevantes para a fadiga, citocinas inflamatórias, indicadores do metabolismo energético, parâmetros de oxidação e a via NRF-2/HO-1 foram analisados para explorar evidências de crocina em exercícios de alta intensidade. **Resultados:** Nossa pesquisa indicou que a crocina estendeu notavelmente o tempo induzido pela natação até a exaustão. Em natação extenuante, a crocina eliminou claramente o BLA e o SUN para manter a homeostase do ambiente interno, ao mesmo tempo em que melhorou significativamente as concentrações de glicogênio nos músculos e no fígado para promover as reservas de energia. Além disso, a crocina melhorou visivelmente a reação inflamatória, como mostram as reduções de TNF- α e IL-6, promovendo a resistência. Nos músculos, a crocina aumentou visivelmente as atividades de SDH e Na + K \pm ATP para melhorar o metabolismo energético em natação extenuante. Por último, a crocina melhorou muito as atividades de SOD e CAT por meio da via NRF-2/HO-1 quanto à defesa contra a fadiga induzida pelo estresse oxidativo. **Conclusões:** A crocina proporciona resistência à oxidação e pode ser usada em nutrientes antifadiga. **Nível de evidência II; Estudo prospectivo comparativo.**

Descritores: Exercício; Fadiga; Crocina; NRF-2; HO-1.

ABSTRACT

Introduction: Fatigue is a manifestation of sub-health status, which causes serious negative effects in daily life. The antioxidant properties of crocin have been widely investigated in many diseases. However, no correlation between crocin and fatigue was reported. **Objective:** To verify the anti-fatigue efficacy of crocin in swimming-induced exhaustive time. **Materials and Methods:** In this study, mice were treated with crocin for 28 days to assess its anti-fatigue efficacy. Exhaustive time, fatigue-relevant biochemical indices, inflammatory cytokines, energy metabolism indicators, oxidation parameters, and the NRF-2/HO-1 pathway were analyzed to explore evidence of crocin in high-intensity exercise. **Results:** Our research indicated that crocin dramatically extended swimming-induced exhaustive time. In strenuous swimming, crocin clearly eliminated BLA and SUN to maintain internal environment homeostasis, while it markedly improved glycogen concentrations in the muscles and liver to promote energy reserves. Moreover, crocin visibly improved the inflammatory reaction, as represented by reductions in TNF- α and IL-6, promoting endurance capacity. In the muscles, crocin noticeably enhanced SDH and Na+K \pm -ATP activities to improve energy metabolism in strenuous swimming. Lastly, crocin markedly improved SOD and CAT activities via the NRF-2/HO-1 pathway to defend against oxidative stress-induced fatigue. **Conclusions:** Crocin provides oxidation resistance and can be developed into anti-fatigue nutriment. **Evidence level II; Comparative prospective study.**

Keywords: Exercise; Fatigue; Crocin; NRF-2; HO-1.

RESUMEN

Introducción: La fatiga es una manifestación del mal estado de salud, que provoca graves efectos negativos en la vida cotidiana. Las propiedades antioxidantes de la crocina han sido ampliamente investigadas en muchas enfermedades. Sin embargo, no se ha reportado ninguna correlación entre la crocina y la fatiga. **Objetivo:** Verificar la eficacia antifadiga de la crocina con respecto al tiempo de agotamiento inducido por la natación. **Materiales y métodos:** En este estudio, se aplicó el tratamiento de crocina a ratones durante 28 días para evaluar su eficacia antifadiga. Se analizaron el tiempo de agotamiento, los índices bioquímicos relevantes para la fatiga, las citocinas inflamatorias, los indicadores



del metabolismo energético, los parámetros de oxidación y la vía NRF-2/HO-1 para explorar evidencias de la crocina en ejercicios de alta intensidad. Resultados: Nuestra investigación indicó que la crocina prolongó notablemente el tiempo de agotamiento inducido por la natación. En la natación extenuante, la crocina eliminó claramente el BLA y el SUN para mantener la homeostasis del ambiente interno, al tiempo que aumentó significativamente las concentraciones de glucógeno en el músculo y el hígado para favorecer las reservas de energía. Además, la crocina mejoró visiblemente la reacción inflamatoria, como lo demuestran las reducciones de TNF- α e IL-6, promoviendo la resistencia. En los músculos, la crocina aumentó visiblemente las actividades de SDH y Na⁺ + K⁺ \pm ATP para mejorar el metabolismo energético en la natación extenuante. Por último, aumentó en gran medida las actividades de SOD y CAT a través de la vía NRF-2/HO-1 en la defensa contra la fatiga inducida por el estrés oxidativo. Conclusiones: La crocina proporciona resistencia a la oxidación y puede utilizarse en nutrientes antifatiga. **Nivel de evidencia II; Estudio prospectivo comparativo.**

Descriptor: Ejercicio; Fatiga; crocina; NRF-2; HO-1.

DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1517-8692202228042020_0030

Artigo recebido em 30/03/2020 aprovado em 04/10/2021

INTRODUÇÃO

A fadiga é um estado de saúde frágil. A fadiga criada por estresse físico e mental intensos é dividida em aguda e crônica. Pode ser considerada primariamente como ineficiência em certo sentido. No entanto, a fadiga prolongada pode causar fadiga crônica, que está associada a uma série de problemas agudos de saúde secundários, como doença neuropsiquiátrica e disfunção do sistema imunológico.^{1,2} A fadiga induzida por exercícios, que se concentra em atletas e militares, tem causado efeitos adversos na vida diária e passou a ser uma pesquisa popular, porque o exercício excessivo com modulação inválida leva à fadiga.³ Hoje em dia, um número crescente de pessoas estão sendo submetidas à fadiga crônica pelo estilo de vida acelerado.⁴ Em consequência, buscar substâncias razoáveis para promover o desempenho nos exercícios é a grande necessidade contra a fadiga.

A intolerância ao exercício, definida como incapacidade de manter a atividade voluntária, é uma forma de desenvolvimento e progressão da fadiga fisiológica. O estresse oxidativo é um mecanismo crucial na fadiga fisiológica.⁵ Com o exercício excessivo, são gerados radicais livres supérfluos que causam lesão oxidativa em organismos vivos.^{6,7} Em pesquisas anteriores, agentes naturais com antioxidantes demonstraram ter uma possível função para melhorar a durabilidade fisiológica.⁸ Portanto, a eliminação da fadiga induzida pelo exercício pode ser atribuída à atividade antioxidante.

A crocina, um importante componente ativo do açafrão, tem sido usada no tratamento de uma variedade de distúrbios, como disfunção muscular e doenças cardiovasculares.⁹ Evidências crescentes indicam que a crocina tem uma ampla gama de efeitos farmacológicos, como antioxidante e anti-inflamatório.^{10,11} Em camundongos com osteoartrite, a crocina mostrou possível atividade terapêutica na disfunção muscular, reduzindo a LPO e NRF-2 e aumentando GSH e GSH-px.¹² Além disso, a crocina também tem sido amplamente usada no tratamento de choque hemorrágico em modelos animais experimentais e exerce proteção contra danos musculares por meio da redução parcial de TNF- α e IL-6 em camundongos.¹³ Esses achados sugerem que a crocina está intimamente relacionada com a função muscular. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito do tratamento com crocina sobre a fadiga induzida por exercícios e esclarecer os possíveis mecanismos antifadiga, discutindo o efeito das propriedades antioxidantes sobre os músculos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Oitenta camundongos ICR machos (8 semanas de idade) foram adquiridos de Hunan SJA Laboratory Animal Co., Ltd. (Changsha, China). Os camundongos foram alojados em ciclo claro-escuro (12/12 horas) com umidade de 50 \pm 10% e temperatura de 23 \pm 2 °C. Depois de uma semana de aclimação, os camundongos foram divididos em 4 grupos:

(1) Grupo controle (Con), (2) 1 mg/kg de crocina (Crocina-L), (3) 20 mg/kg de crocina (Crocina-M) e (4) 40 mg/kg de crocina (Crocina-H). A crocina foi administrada por gavagem por 4 semanas sucessivas. O grupo controle foi tratado com água em medidas equivalentes. O estudo e todos os participantes foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Hunan Normal University (nº 2018162).

Teste de natação forçada

O tempo até a exaustão foi testado com natação forçada com carga de peso. Trinta minutos depois do último teste, os camundongos com carga de chumbo (5% do peso corporal) nadaram separadamente em um tanque (25 a 26 °C, com 30 cm de profundidade). O tempo até a exaustão foi verificado quando os camundongos não conseguiam se manter na superfície por mais de 10 segundos.

Avaliação bioquímica

Depois de 4 semanas de teste, os camundongos foram forçados a nadar por noventa minutos sem a carga de chumbo. Depois de repouso de uma hora, os camundongos foram anestesiados individualmente com hidrato de cloral. O sangue foi coletado por segregação do globo ocular e foi centrifugado (1.500 g, 4 °C, 10 min.) para separar o soro. Os fatores BLA e SUN relacionados com fadiga foram avaliados por espectrofotômetro durante natação extenuante.

Determinação de variáveis inflamatórias

As variáveis de TNF- α e IL-6 foram medidas por ELISA. Neste estudo, o anticorpo foi marcado com biotina e incubado com avidina-peroxidase. Em seguida, o complexo reagiu quimicamente com substrato TMB com valor de absorbância de 405 nm.

Glicogênio, estresse oxidativo, detecção do metabolismo energético

Imediatamente depois da morte, o tecido foi cortado, pesado e armazenado a -80 °C. No experimento de acompanhamento, fígado e músculos foram triturados em ambiente de baixa temperatura. A seguir, a mistura foi centrifugada (4.000 g, 4 °C, 15 min.) para medir o teor de glicogênio. Nos músculos, a atividade de SOD e CAT foi testada para avaliar a capacidade antioxidante. As concentrações de SDH e (Na⁺,K⁺)-ATPase foram detectadas para avaliar a relação de fornecimento energético.

Expressão de mRNA nos genes

A extração de RNA foi realizada com reagente TRIzol nos músculos. Além disso, o RNA foi transformado em cDNA para calcular a expressão de mRNA. As expressões dos genes foram medidas por PCR em tempo real. Os iniciadores são indicados na Tabela 1. As expressões gênicas foram demonstradas como CT (ciclo *threshold*) relativo via β -actina padronizada.

Tabela 1. Iniciadores usados neste estudo.

Gene	Número identificador		Sequências de iniciadores
NRF-2	NM_010902	Iniciador direto	5'-TCCGCTGCCATCAGTCAGTC-3'
		Iniciador antissenso	5'-ATTGTGCCTTCAGCGTGCTTC-3'
HO-1	NM_010442	Iniciador direto	5'-TGCAGGTGATGCTGACAGAGG-3'
		Iniciador antissenso	5'-GGGATGAGCTAGTGCTGATCTGG-3'
β-actina	NM_007393	Iniciador direto	5'-GATTACTGCTCTGGCTCCTAGC-3'
		Iniciador antissenso	5'-GACTCATCGTACTCCTGCTTGC-3'

Análises estatísticas

Todas as medidas são expressas como média ± DP. A significância foi demonstrada por ANOVA de uma via; $p < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS

Cálculo do peso corporal e índice de órgãos

A Tabela 2 mostra os efeitos da crocina sobre o peso dos camundongos e o índice de órgãos principais. Não houve diferença significativa entre os grupos controle, crocina-L, crocina-M e crocina-H com relação ao peso corporal basal e final ($p > 0,05$). Além disso, o tratamento com crocina não afetou negativamente o índice relativo de órgãos, incluindo coração, fígado, rim e pulmão ($p > 0,05$). Esses resultados indicaram que a crocina em diversas doses foi segura e confiável e não apresentou toxicidade em camundongos durante o estudo experimental.

Medição do tempo até a exaustão em natação

A Figura 1 mostra os efeitos da crocina sobre a capacidade de natação com carga de peso. O tempo até a exaustão nos grupos controle, crocina-L e crocina-H foram de 8,90, 10,50, 14,26 e 19,85 minutos, respectivamente. Os tempos até a exaustão nos grupos crocina-M e crocina-H foram significativamente prolongados em 60% e 123%, respectivamente ($p < 0,01$). Esses resultados indicaram que a crocina tem propriedades antifadiga em exercícios extenuantes.

Tabela 2. Efeitos da crocina sobre as alterações de peso.

	CON	Crocina-L	Crocina-M	Crocina-H
PC basal (g)	19,92±1,30	19,89±1,19	19,81±1,42	19,83±1,33
PC final (g)	31,56±1,90	31,91±2,22	30,89±2,62	31,31±2,34
Peso relativo do fígado (%)	4,93±0,35	5,04±0,46	4,87±0,54	4,94±0,62
Peso relativo do rim (%)	1,37±0,20	1,34±0,18	1,30±0,16	1,33±0,17
Peso relativo do coração (%)	0,59±0,05	0,58±0,05	0,57±0,06	0,56±0,04
Peso relativo do pulmão (%)	0,62±0,03	0,60±0,05	0,62±0,03	0,60±0,05

A representação do índice de órgãos é 100 g/G (n = 10 camundongos/grupo). Crocina-L, Grupo de crocina em dose baixa (1 mg/kg). Crocina-M, Grupo de crocina em dose média (20 mg/kg). Crocina-H, Grupo de crocina em dose alta (40 mg/kg).

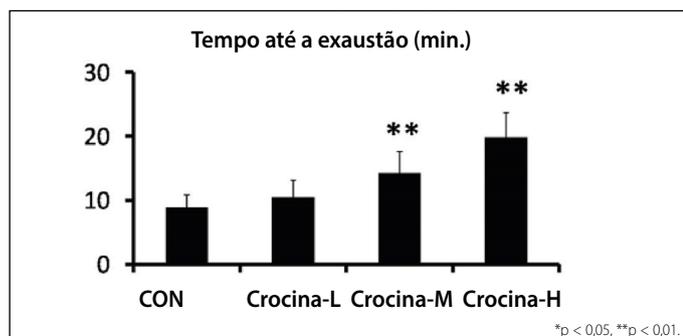


Figura 1. Efeitos da crocina sobre os tempos até a exaustão (n = 10 ratos/grupo). Os tempos de natação exaustiva foram acentuadamente prolongados nos grupos crocina em comparação com o grupo controle.

Análise de parâmetros bioquímicos

A Figura 2 apresenta os efeitos da crocina sobre os parâmetros bioquímicos, que também se relacionam com a fadiga. As concentrações de BLA e SUN foram claramente reduzidas nos grupos crocina-M e crocina-H em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$). Esses resultados indicaram que a crocina eliminou metabólitos prejudiciais e facilitaram a função física.

Deteção de respostas inflamatórias

A Figura 3 mostra o efeito da crocina sobre as citocinas inflamatórias envolvidas na desregulação imunológica que ocasiona fadiga. As concentrações de TNF-α e IL-6 foram significativamente reduzidas nos grupos crocina-M e crocina-H em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$, $p < 0,05$). Esses resultados indicaram que a crocina melhorou a reação inflamatória, de modo a promover a capacidade de resistência em exercícios extenuantes.

Análise do teor de glicogênio

O efeito da crocina sobre o teor de glicogênio, que é diretamente relacionado com o suplemento energético para movimentos vitais é mostrado na Figura 4. O teor de glicogênio nos músculos e no fígado foi notavelmente melhor nos grupos crocina-M e crocina-H em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$). Esses resultados indicaram que a crocina recompôs a reserva energética e promoveu o adiamento da fadiga em exercícios extenuantes.

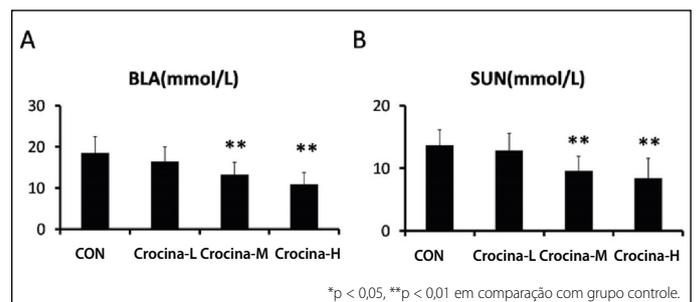


Figura 2. A crocina atuou sobre os parâmetros relacionados com a fadiga (n = 10 camundongos/grupo). A crocina reduziu nitidamente as concentrações de BLA e de SUN em natação de alta intensidade.

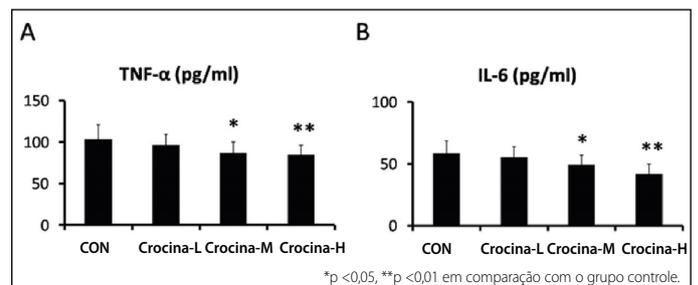


Figura 3. Efeitos da crocina sobre citocinas inflamatórias (n = 10 camundongos/grupo). A crocina reduziu as concentrações de TNF-α e IL-6 na natação de alta intensidade.

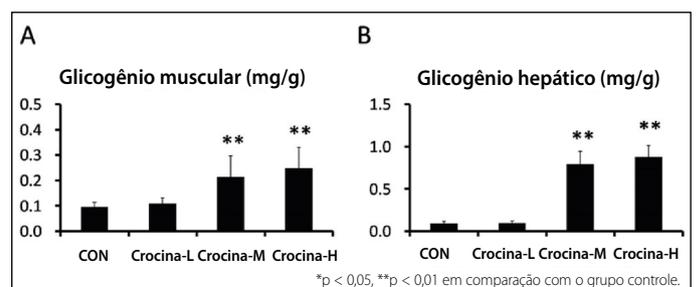


Figura 4. Efeito da crocina sobre o teor de glicogênio (n = 10 camundongos/grupo). A crocina recompôs nitidamente a reserva de glicogênio dos músculos e do fígado na natação de alta intensidade.

Teste de atividade de enzimas do metabolismo energético

O efeito da crocina sobre o metabolismo energético (associado à síntese de ATP na atividade vital) é apresentado na Figura 5. A atividade de SDH e (Na⁺,K⁺)-ATPase no músculo teve melhora visível nos grupos crocina-M e crocina-H em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$, $p < 0,05$). Esses resultados indicaram fornecimento de energia regulado pela crocina para atenuar a fadiga induzida pelo exercício.

Teste de atividade de enzimas antioxidantes

O efeito da crocina sobre as funções antioxidantes, que é a teoria clássica antifadiga em exercícios extenuantes, é apresentado na Figura 6. A atividade das enzimas antioxidantes, inclusive SOD e CAT, nos músculos foi elevada nos grupos crocina-M e crocina-H em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$). Esses resultados indicaram um sistema de defesa antioxidante modulado pela crocina para promover a habilidade atlética.

Experimento com expressões gênicas

A Figura 7 mostra o efeito da crocina sobre os genes codificadores de antioxidantes envolvidos na modulação da atividade de enzimas antioxidantes. As expressões de NRF-2 e HO-1 no músculo tiveram regulação positiva visível nos grupos crocina-M e crocina-H em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$). Esses resultados indicaram que a via NRF-2/HO-1 mediada por crocina tem efeitos antifadiga em exercícios extenuantes.

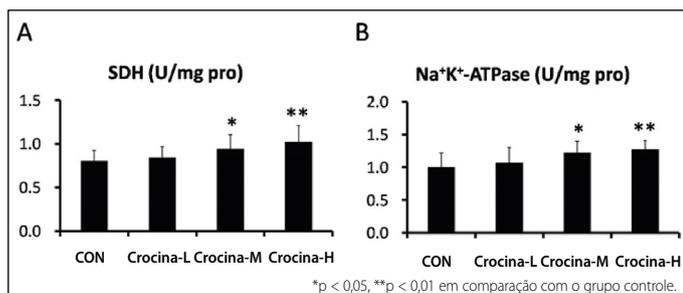


Figura 5. Efeito da crocina sobre as enzimas do metabolismo energético ($n = 10$ camundongos/grupo). A regulação da crocina de SDH e (Na⁺,K⁺)-ATPase notável no músculo em natação de alta intensidade.

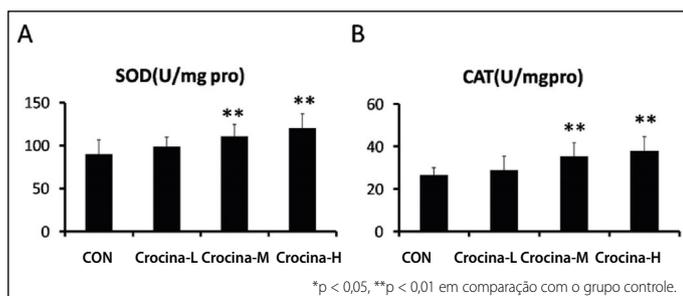


Figura 6. Efeito da crocina sobre as atividades de enzimas antioxidantes ($n = 10$ camundongos/grupo). A crocina modulou SOD e CAT nos músculos em natação de alta intensidade.

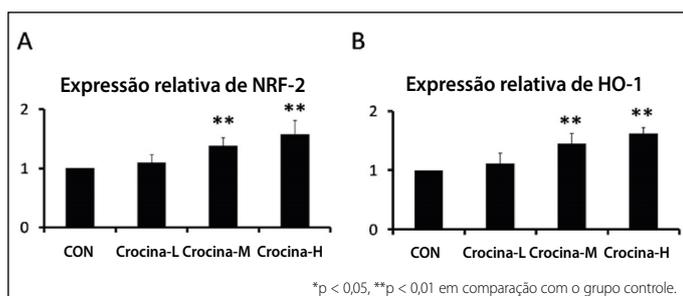


Figura 7. Efeito da crocina sobre a expressão de mRNA de genes reguladores de antioxidantes ($n = 3$ camundongos/grupo). A expressão dos genes NRF-2 e HO-1 tiveram regulação positiva evidente nos grupos crocina em comparação com o grupo controle.

DISCUSSÃO

Neste estudo, o modelo de natação até a fadiga foi usado para demonstrar as propriedades antifadiga da crocina em camundongos. Pesquisas anteriores provaram que o exercício excessivo ocasiona fadiga física e mental, e a duração da resistência ao exercício foi considerada um indicador antifadiga.¹⁴ O tratamento com crocina prolongou significativamente o tempo de natação com carga de peso. A capacidade de resistência aumentou 60% e 123% em doses médias e altas de crocina, respectivamente. Além disso, a administração de crocina não fez diferença no peso relativo dos órgãos ao longo de todo o experimento. Esses dados indicam que a crocina pode ser um nutriente antifadiga eficiente e saudável.

Existem muitos fatores biológicos relacionados à fadiga, como BLA e SUN, que foram usados para avaliar as capacidades de resistência em exercícios extenuantes. O ácido láctico (LA), subproduto do metabolismo anaeróbico, é gerado por desenvolvimento e progresso da fadiga, quando a produção de energia não acompanha os exercícios de maior intensidade no metabolismo aeróbico.¹⁵ Além disso, a proteína foi tratada como fonte de energia nos exercícios de alta intensidade. A seguir, o SUN foi produzido por catabolismo de aminoácidos.¹⁶ Assim sendo, a melhora de LA e SUN é considerada uma forma eficaz de retardar a fadiga e fortalecer a capacidade de resistência em exercícios de alta intensidade. Um relato anterior mostrou que a crocina diminuiu expressivamente o SUN no sangue do tronco, de modo a proteger os danos renais em diabéticos.¹⁷ Neste estudo, a crocina reduziu as concentrações de BLA e SUN para facilitar o desempenho físico na natação de alta intensidade, o que sugeriu que a substância acelerou a eliminação do cansaço por meio da moderação da produção de metabólitos no processo de suplementação energética.

Os fatores inflamatórios também são considerados indicadores de fadiga, pois os danos em órgãos costumam ocorrer durante exercícios de alta intensidade. Portanto, esse tipo de exercício pode provocar desregulação imunológica, que está fortemente ligada à indução de fadiga e incapacidade de função corporal. Um relato anterior mostrou que a quercetina-3-O-gentiobiose aliviou acentuadamente a exaustão induzida por citocinas inflamatórias, como TNF- α e IL-6, de modo a retardar a fadiga.¹⁸ Além disso, comprovou-se que a crocina atenua a pancreatite induzida por ceruleína ao restringir a expressão de TNF- α e IL-6.¹⁹ Neste estudo, a crocina reduziu os níveis de TNF- α e IL-6 e melhorou a capacidade de resistência em natação de alta intensidade, o que sugere que o cansaço provavelmente diminuiu pela inibição do acúmulo de citocinas inflamatórias.

O glicogênio é um polissacarídeo que armazena energia para manter o nível de glicose e complementar a ATP.²⁰ A relação entre o glicogênio e a fadiga é negativa. Em outras palavras, quanto maior a capacidade de resistência do corpo, maior o aumento do conteúdo de glicogênio. Um estudo anterior mostrou que o polissacarídeo único reduziu a fadiga induzida pelo exercício, que se deve, em parte, ao aumento do nível de glicogênio nos músculos e no fígado.²¹ Neste estudo, a crocina aumentou o nível de glicogênio muscular e hepático, de modo a prolongar a tolerância ao exercício, o que sugere que a crocina reduziu a fadiga física, aumentando a reserva energética.

A ATP é uma fonte de energia para os movimentos. Em exercícios de alta intensidade, muitos metabólitos desfavoráveis, como BLA e SUN, afetam o equilíbrio da homeostase e a atividade enzimática, prejudicando a síntese de ATP. Um relato anterior mostrou que o extrato de quiabo aumentou muito o teor de SDH, ATP e ATPase, o que estendeu o tempo de natação.²² Além disso, a crocina promoveu a síntese de ATP, reduzindo a lesão mitocondrial induzida por MPP+.²³ Neste estudo, a crocina ampliou a atividade de SDH e (Na⁺,K⁺)-ATPase nos músculos, sugerindo a mitigação da fadiga induzida pelo exercício ao aumentar o fornecimento energético.

Exercícios extenuantes levam a espécies reativas de oxigênio (ROS) supérfluas que evocam estresse oxidativo e danos musculares.²⁴

Portanto, eliminar as ROS é uma forma potente de aumentar a capacidade atlética, e o sistema de defesa contra antioxidantes é conhecido pelo antagonismo ao estresse oxidativo. SOD e CAT são partes primárias do sistema antioxidativo. Um estudo anterior mostrou que o Ginsenoside Rg3 reduziu o estresse oxidativo induzido por exercício de alta intensidade em ratos idosos, por meio da preservação de SOD e CAT ativos.²⁵ Além disso, a crocina mostrou capacidade antioxidante para melhorar a qualidade do esperma induzido por paraquat em camundongos.²⁶ Neste estudo, a crocina acentuou as atividades SOD e CAT no músculo, o que sugeriu que a crocina ampliou o desempenho nos exercícios por meio da modulação de enzimas antioxidantes.

Para esclarecer melhor o efeito antioxidante da crocina em exercícios extenuantes, genes de vias relevantes para o estresse oxidativo, como NRF-2 e HO-1, foram examinados nos músculos. A HO-1 é uma enzima antioxidante e está envolvida na modulação das respostas inflamatórias.²⁷ Além disso, a expressão de HO-1 é regulada por NRF-2, que é um gene sensível a redox do elemento de resposta antioxidante.²⁸ Portanto, a via NRF-2/HO-1 é considerada um alvo vital para redução da fadiga induzida por estresse oxidativo. Relatos anteriores mostraram que Anwulignan prolongou a capacidade motora ao regular a expressão de NRF-2 e HO-1.²⁹ Além disso, a crocina atenuou o dano oxidativo induzido pela fumaça de cigarro pelo aumento da expressão de NRF-2.³⁰ Neste estudo, a crocina ampliou a expressão de NRF-2 e HO-1 nos músculos, aliviando a fadiga e a disfunção muscular, por meio da regulação da sinalização antioxidante.

CONCLUSÕES

Este estudo comprova que a crocina reduz a fadiga excessiva induzida pela natação. Seus efeitos contra fadiga foram associados ao retardo da lesão oxidativa por meio da via NRF-2/HO-1. Portanto, nossas pesquisas demonstram que a crocina pode ser usada como nutriente seguro e confiável para retardar a fadiga.

ABREVIÇÕES

BLA: ácido láctico no sangue; CAT: catalase-peroxidase; HO-1: heme oxigenase; IL-6: interleucina 6; NRF-2: Fator nuclear derivado de eritróide 2; SDH: sacaropina desidrogenase; SOD: superóxido dismutase; SUN: nitrogênio ureico sérico; TNF- α : fator de necrose tumoral.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a todas as pessoas que participaram do estudo e aos pesquisadores. Este estudo foi apoiado por um projeto apoiado pela Fundação de Ciências Naturais da Província de Hunan da China (concessão nº 2020JJ5391 e 2021JJ40376) e pelo Fundo de Pesquisa Científica do Departamento de Educação da Província de Hunan (concessão nº 18B402).

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

CONTRIBUIÇÃO DE AUTORES: LM: redação, análise estatística, concepção intelectual e elaboração de todo o projeto de pesquisa; LX: redação, revisão e realização das pesquisas; LS: pesquisas, análise dos dados e redação; PH: análise estatística, revisão e conceito intelectual.

REFERÊNCIAS

1. Matura LA, Malone S, Jaime-Lara R, Riegel B. A Systematic Review of Biological Mechanisms of Fatigue in Chronic Illness. *Biol Res Nurs*. 2018;20(4):410-21.
2. Klimas NG, Konecny AO. Chronic fatigue syndrome: inflammation, immune function, and neuroendocrine interactions. *Curr Rheumatol Rep*. 2007;9(6):482-7.
3. Davis JM, Bailey SP. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 1997;29(1):45-57.
4. De Meirlier KL, Khaiboullina SF, Frémont M, Hulstaert J, Rizvanov AA, Palotás A, et al. Plasmacytoid dendritic cells in the duodenum of individuals diagnosed with myalgic encephalomyelitis are uniquely immunoreactive to antibodies to human endogenous retroviral proteins. *In Vivo*. 2013;27(2):177-87.
5. Reid MB. Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Radic Biol Med*. 2008;44(2):169-79.
6. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2004;44(4):275-95.
7. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun*. 1982;107(4):1198-1205.
8. Pastor R, Tur JA. Antioxidant Supplementation and Adaptive Response to Training: A Systematic Review. *Curr Pharm*. 2019;25(16):1889-1912.
9. Akbari G, Ali Mard S, Veisi A. A comprehensive review on regulatory effects of crocin on ischemia/reperfusion injury in multiple organs. *Biomed Pharmacother*. 2018;99:664-670.
10. Korani S, Korani M, Sathyapalan T, Sahebkar A. Therapeutic effects of crocin in autoimmune diseases: A review. *Biofactors*. 2019;45(6):835-43.
11. Alavizadeh SH, Hosseinzadeh H. Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. *Food Chem Toxicol*. 2014;64:65-80.
12. Lei M, Guo C, Hua L, Xue S, Yu D, Zhang C, et al. Crocin Attenuates Joint Pain and Muscle Dysfunction in Osteoarthritis Rat. *Inflammation*. 2017;40(6):2086-2093.
13. Yang L, Dong X. Inhibition of Inflammatory Response by crocin Attenuates Hemorrhagic Shock-Induced Organ Damages in Rats. *J Interferon Cytokine Res*. 2017;37(7):295-302.
14. Tan W, Yu KQ, Liu YY, Ouyang MZ, Yan MH, Luo R, et al. Anti-fatigue activity of polysaccharides extract from *Radix Rehmanniae* Preparata. *Int J Biol Macromol*. 2012;50(1):59-62.
15. Liu J, DU C, Wang Y, Yu Z. Anti-fatigue activities of polysaccharides extracted from *Hericium erinaceus*. *Exp Ther Med*. 2015;9(2):483-87.
16. Wang L, Zhang HL, Lu R, Zhou YJ, Ma R, Lv JQ, et al. The decapeptide CMS001 enhances swimming endurance in mice. *Peptides*. 2008;29(7):1176-82.
17. Altinoz E, Oner Z, Elbe H, Cigremis Y, Turkoz Y. Protective effects of saffron (its active constituent, crocin) on nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Hum Exp Toxicol*. 2015;34(2):127-34.
18. Lin Y, Liu HL, Fang J, Yu CH, Xiong YK, Yuan K. Anti-fatigue and vasoprotective effects of quercetin-3-O-gentiobiose on oxidative stress and vascular endothelial dysfunction induced by endurance swimming in rats. *Food Chem Toxicol*. 2014;68:290-6.
19. Godugu C, Pasari LP, Khurana A, Anchi P, Saifi MA, Bansod SP, et al. Crocin, an active constituent of *Crocus sativus* ameliorates cerulein induced pancreatic inflammation and oxidative stress. *Phytother Res*. 2019;34(4):825-35.
20. Lamou B, Taiwe GS, Hamadou A, Abene, Houlray J, Atour MM, et al. Antioxidant and Antifatigue Properties of the Aqueous Extract of *Moringa oleifera* in Rats Subjected to Forced Swimming Endurance Test. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3517824.
21. Wei W, Li ZP, Zhu T, Fung HY, Wong TL, et al. Anti-Fatigue Effects of the Unique Polysaccharide Marker of *Dendrobium officinale* on BALB/c Mice. *Molecules*. 2017;22(1):155.
22. Gao H, Zhang W, Wang B, Hui A, Du B, Wang T, et al. Purification, characterization and anti-fatigue activity of polysaccharide fractions from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Food Funct*. 2018;9(2):1088-1101.
23. Zhang GF, Zhang Y, Zhao G. Crocin protects PC12 cells against MPP(+)-induced injury through inhibition of mitochondrial dysfunction and ER stress. *Neurochem Int*. 2015;89:101-10.
24. Chen Z, Li S, Wang X, Zhang CL. Protective effects of *Radix Pseudostellariae* polysaccharides against exercise-induced oxidative stress in male rats. *Exp Ther Med*. 2013;5(4):1089-92.
25. Yang QY, Lai XD, Ouyang J, Yang JD. Effects of Ginsenoside Rg3 on fatigue resistance and SIRT1 in aged rats. *Toxicology*. 2018;409:144-51.
26. Kamali FS, Shahrooz R, Najafi GHR, Razi M. Ameliorative Effect of Crocin on Sperm Parameters and In Vitro Fertilization in Mice under Oxidative Stress Induced by Paraquat. *Int J Fertil Steril*. 2020;13(4):307-14.
27. Kim HS, Park EJ, Park SW, Kim HJ, Chang KC. A tetrahydroisoquinoline alkaloid THL-28 reduces LPS-induced HMGB1 and diminishes organ injury in septic mice through p38 and PI3K/NRF-2/HO-1 signals. *Int Immunopharmacol*. 2013;17(3):684-92.
28. Friend J, Reiter RJ. The Keap1-NRF-2-antioxidant response element pathway: a review of its regulation by melatonin and the proteasome. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;401:213-20.
29. Zhang X, Jing S, Lin H, Sun W, Jiang W, Yu C, et al. Anti-fatigue effect of anwulignan via the NRF2 and PGC-1 α signaling pathway in mice. *Food Funct*. 2019;10(12):7755-66.
30. Radan M, Dianat M, Badavi M, Mard SA, Bayati V, Ahmadzadeh M. The Association of Cigarette Smoke Exposure with Lung Cellular Toxicity and Oxidative Stress: the Protective Role of Crocin. *Inflammation*. 2020;43(1):135-45.