

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

ANA CARLA LIMA DE FRANÇA

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE BETERRABA SOBRE
ESTRESSE OXIDATIVO, DESGASTE MUSCULAR E DESEMPENHO
DE CORREDORES RECREACIONAIS

JOÃO PESSOA-PB

2018

ANA CARLA LIMA DE FRANÇA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE BETERRABA SOBRE
ESTRESSE OXIDATIVO, DESGASTE MUSCULAR E DESEMPENHO
DE CORREDORES RECREACIONAIS**

JOÃO PESSOA-PB

2018

ANA CARLA LIMA DE FRANÇA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE BETERRABA SOBRE
ESTRESSE OXIDATIVO, DESGASTE MUSCULAR E DESEMPENHO
DE CORREDORES RECREACIONAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Nutrição, Departamento de Nutrição, Centro de
Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba em
cumprimento aos requisitos para obtenção do título de
Mestre.

Linha de Pesquisa: Clínica e Epidemiologia Aplicada a Nutrição

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva

JOÃO PESSOA-PB

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

FB14e França, Ana Carla Lima de.

Efeitos da suplementação do suco de beterraba sobre
estresse oxidativo, desgaste muscular e desempenho de
corredores recreacionais / Ana Carla Lima de França. -
João Pessoa, 2018.

98 f. : il.

Orientação: Alexandre Sérgio Silva.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Nutrição. 2. Suco de beterraba. 3. Desempenho físico
- suplementação. 4. Estresse oxidativo - beterraba. 5.
Dano muscular. I. Silva, Alexandre Sérgio. II. Título.

UFPB/BC

ANA CARLA LIMA DE FRANÇA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE BETERRABA SOBRE
ESTRESSE OXIDATIVO, DESGASTE MUSCULAR E DESEMPENHO
DE CORREDORES RECREACIONAIS**

Dissertação _____ em 27/03 / 2018.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva (DEF/CCS/UFPB)

Coordenador da Banca Examinadora



Prof.^a Dr.^a Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves (DN/CCS/UFPB)

Examinadora Interna – Titular

Prof.^a Dr.^a Jailane de Souza Aquino (DN/CCS/UFPB)

Examinadora Interna – Suplente

Prof. Dr. Marcos Antônio Pereira dos Santos (DBF/CCS/UFPB)

Examinador Externo – Titular

Prof. Dr. Ytalo Mota Soares (DEF/CCS/UFPB)

Examinador Externo – Suplente

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, meu redentor, por que sei que sem ele nada seria possível. Em todos os momentos Ele é o meu socorro e amigo de todas as horas. Graças dou porque até aqui me ajudou o Senhor e sei que a sua vontade é boa, perfeita e agradável para todo o sempre.

Aos meus pais, José Carlos Fernandes de França e Dilma Lima de França por todo o ensinamento e educação e por orarem por mim. Ao meu irmão Jairo Lima de França por todo o apoio e auxílio.

Ao meu marido Ulisses da Mota Silva, por todo o incentivo. Obrigada por todo o amor e por todas as vezes que renunciou a si mesmo para que eu realizasse os meus sonhos. Como está escrito em Eclesiastes 4:9-12: “Melhor é serem dois do que um... Porque, se um cair, o outro levanta o seu companheiro; mas aí do que estiver só; pois, caindo, não haverá outro que o levante”. A minha querida filha Sarah Mota, sou grata a Deus por sua vida, sempre tão compreensiva, amorosa, obediente e amiga.

Aos meus amigos Lydiane Toscano, Klécia Sena, Milena Moura, Eder Jackson e Matheus da Silveira que contribuíram diretamente para a realização desta pesquisa, para que este fosse concluído com sucesso. Em especial, agradeço a Lydiane Toscano, por sua amizade e companheirismo em todos os momentos, me dando apoio e força, tornando as dificuldades fáceis de serem superadas.

Aos atletas, corredores de rua, por permitirem a realização da coleta de dados; e pela aceitação, disponibilidade paciência e dedicação à pesquisa;

A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, na pessoa do Prof. Dr. Evandro Leite de Souza e aos secretários Carlos Fernando e Marcos Hermínio pelo atendimento sempre cordial;

A todos os que fazem parte do laboratório LETFADS, pela convivência, apoio prestado e pelos momentos de aprendizado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva que acompanhou minha luta. Sou grata a Deus pela sua vida. Obrigada pela confiança depositada em mim, pela sabedoria e dedicação ao conduzir este trabalho com tranquilidade, pela paciência e pelos constantes incentivos.

Aos membros da banca, por aceitaram o convite, e contribuíram grandiosamente com o trabalho;

Ao CNPq pelo auxílio financeiro durante a realização do presente trabalho.

RESUMO

Embora a beterraba seja um alimento que vem sendo estudado do ponto de vista do efeito ergogênico, ainda existem algumas lacunas, especialmente quanto aos mecanismos que explicam a melhora do desempenho físico. Mesmo diante da presença de antioxidantes, o alto teor de nitrato tem sido proposto para explicar seu efeito ergogênico. Então, o presente estudo objetivou investigar os efeitos da suplementação do suco de beterraba sobre estresse oxidativo, desgaste muscular e desempenho de corredores recreacionais. Para tanto um estudo experimental clínico, randomizado e controlado com delineamento *cross over* e duplo cego foi conduzido com 10 corredores recreacionais ($42,5 \pm 6,4$ anos; VO_2 max $55,2 \pm 6,9$ mL/kg/min), do sexo masculino. Eles realizaram um teste até a exaustão em esteira ergométrica a 80% do VO_2 max duas horas após consumir uma dose de 140 mL de suco de beterraba (800 mg NO_3^-) ou bebida controle. Coletas sanguíneas foram realizadas antes da suplementação com o suco de beterraba ou bebida controle, duas horas após a suplementação e imediatamente após o teste até a exaustão para análise de marcadores de dano muscular (creatina quinase - CK e lactato desidrogenase- LDH) e de estresse oxidativo (malondialdeído - MDA e capacidade antioxidante total – CAT e nitrito). O desempenho foi avaliado por meio do teste de exaustão. A análise estatística mostrou que houve aumento significativo de nitrito com o suco de beterraba, entre o momento pré (BET: $12,9 \pm 2,4 \text{ } \mu\text{M}$; BET: $20,4 \pm 4,4 \text{ } \mu\text{M}$, $p=0,007$) e o momento pós-exercício. O tempo de corrida até a exaustão foi 22% maior com a ingestão do suco (BET: $49,3 \pm 18,7$; CONT: $40,4 \pm 18,2$ minutos, $p=0,009$). A corrida promoveu aumento do estresse oxidativo com a bebida controle ($3,9 \pm 0,7 \text{ } \mu\text{M}$ para $4,9 \pm 0,7 \text{ } \mu\text{M}$) nos momentos pré para pós-exercício ($p=0,01$), enquanto o suco impediu o aumento do estresse oxidativo ($3,8 \pm 0,9 \text{ } \mu\text{M}$ para $3,9 \pm 1,0 \text{ } \mu\text{M}$, aumento de 2,6%). Por outro lado, não houve alteração para a capacidade antioxidante total (CAT). A concentração sérica de CK aumentou tanto no grupo experimental ($181,5 \pm 41,3 \text{ U/L}$ para $261,1 \pm 77,2 \text{ U/L}$, $p=0,03$ e 43,8% de aumento do pré para o pós-exercício) quanto o grupo controle ($215,6 \pm 126,1 \text{ U/L}$ para $316,8 \pm 164,6 \text{ U/L}$, $p=0,016$ e 46,9%). Para LDH, os valores se mantiveram estatisticamente estáveis. O presente estudo demonstrou que a ingestão aguda de 140 mL de suco de beterraba promoveu elevação significativa nos níveis plasmáticos de nitrito, melhora no desempenho de corredores recreacionais, além da atenuação do estresse oxidativo induzido pelo teste de corrida até a exaustão.

Palavras-chaves: Dano muscular. Desempenho físico. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Although beet is a food that has been studied from the point of view of the ergogenic effect, there are still some gaps, especially regarding the mechanisms that explain the improvement of performance. Even with the presence of antioxidants, the high nitrate content has been proposed to explain its ergogenic effect. So, the present study aimed to investigate the effects of beet juice supplementation on oxidative stress, muscle wasting and performance of recreational runners. For this purpose, a randomized, controlled clinical trial with cross-over and double-blind design was conducted with 10 recreational runners (42.5 ± 6.4 years, VO_2 max 55.2 ± 6.9 mL / kg / min), male. They performed a test until exhaustion on 80% exercise treadmill VO_2 max two hours after consuming a dose of 140 mL of beet juice (800 mg NO_3^-) or control drink. Blood samples were taken before supplementation with beet juice or control drink, two hours after supplementation and immediately after the test until exhaustion for analysis of markers of muscle damage (creatine kinase - CK and lactate dehydrogenase - LDH) and stress (malondialdehyde - MDA and total antioxidant capacity - CAT and nitrite). Performance was assessed through the exhaustion test. Statistical analysis showed that there was significantly increased nitrite with beetroot juice, the time between pre (BET: 12.9 ± 2.4 μM , BET: 20.4 ± 4.4 μM , $p = 0.007$) and post-exercise. Running time to exhaustion was 22% higher with juice intake (BET: 49.3 ± 18.7 , CONT: 40.4 ± 18.2 minutes, $p = 0.009$). The race promoted increased oxidative stress with the control beverage (3.9 ± 0.7 μM to 4.9 ± 0.7 μM) in the pre-post-exercise moments ($p = 0.01$), while the juice prevented the increased oxidative stress (3.8 ± 0.9 μM to 3.9 ± 1.0 μM , increase of 2.6%). On the other hand, there was no change in total antioxidant capacity (CAT). The serum concentration of CK increased in both the experimental group (181.5 ± 41.3 U / L to 261.1 ± 77.2 U / L, $p = 0.03$ and 43.8% increase from pre to post (215.6 ± 126.1 U / L for 316.8 ± 164.6 U / L, $p = 0.016$ and 46.9%). For LDH, the values remained statistically stable. The present study demonstrated that the acute intake of 140 mL of beet juice promoted a significant increase in nitrite plasma levels, improvement in the performance of recreational corridor, and the attenuation of the oxidative stress induced by the test run to exhaustion.

Key-words: Muscle damage. Physical performance. Oxidative stress.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

Figura 1-	Via entero salivar da absorção do NO_3^-	22
Figura 2-	Desenho do estudo.....	41

FIGURAS DO ARTIGO

Figura 1-	Desenho do estudo experimental.....	81
Figura 2-	Concentração de nitrito após ingestão de suco de beterraba ou bebida controle.....	82
Figura 3-	Desempenho no teste de corrida até a exaustão à 80% do VO_2 max após ingestão de suco de beterraba ou bebida controle.....	83
Figura 4-	Estresse oxidativo, resposta antioxidante e dano muscular induzido pelo teste de corrida até a exaustão à 80% do VO_2 max após ingestão e suco de beterraba ou bebida controle.....	84

LISTA DE TABELAS

TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1-	Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico.....	31
Tabela 2-	Informações nutricionais, compostos fenólicos e atividade antioxidante do suco de Beterraba.....	46

TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1-	Informações nutricionais, compostos fenólicos e atividade antioxidante do suco de Beterraba.....	85
Tabela 2-	Características iniciais dos voluntários.....	86
Tabela 3-	Ingestão alimentar dos corredores recreacionais durante o estudo.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST	Capacidade Antioxidante Total
ATP	Adenosina trifosfato
Ca²⁺	Cálcio
CAT	Amino Transferase
CK	Creatinaquinase
DMIE	Dano Muscular Induzido pelo Exercício
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ENOS	Óxido Nítrico Síntase Endotelial
ERO's	Espécies Reativas de Oxigênio
FAO	Food Agriculture Organization
FC	Frequência Cardíaca
FCM	Frequência Cardíaca Máxima
GPx	Glutathione Peroxidase
HULW	Hospital Universitário Lauro Wanderley
IMC	Índice de Massa Corporal
LDH	Lactato Desidrogenase
MAC	Modulação Autonômica cardíaca
MDA	Malondialdeído
MIVC	Contrações Voluntárias Isométricas Máximas

NaCl	Cloreto de Sódio
NaNO₃	Nitrato de Sódio
NEED	N-(1-Naphtyl)-ethylenediamine dihydrochloride
NO₂⁻	Nitrito
NO₃⁻	Nitrato
NO	Óxido Nitrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Proteína C Reativa
PSE	Percepção Subjetiva de Esforço
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNFα	Fator de Necrose Tumoral
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
VO₂ max	Volume de Oxigênio Máximo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1	EFEITOS DO ESTRESSE OXIDATIVO E DANO MUSCULAR NO DESEMPENHO FÍSICO.....	16
2.1.1	BALANÇO REDOX.....	16
2.1.2	DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO FÍSICO.....	18
2.2	ALIMENTOS COMO RECURSO ERGOGÊNICO.....	19
2.3	EVIDENCIAS DOS BENEFÍCIOS PROMOVIDOS PELA BETERRABA.....	20
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
3.1	TIPO DE PESQUISA.....	39
3.2	POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	39
3.3	DESENHO DO ESTUDO.....	40
3.4	PREPARAÇÃO PARA OS PROCEDIMENTOS COM EXERCÍCIO.....	42
3.5	DETERMINANTE DA CAPACIDADE AERÓBIA (TESTE 3.200 METROS).....	42
3.6	AValiação PSICOMÉTRICA.....	42
3.7	AValiação DO SONO.....	43
3.8	TESTE ATÉ EXAUSTÃO.....	44
3.9	AValiação NUTRICIONAL.....	44
3.9.1	COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	44
3.9.2	CONSUMO ALIMENTAR.....	45

3.10	SUPLEMENTAÇÃO.....	45
3.11	COLETAS E ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	47
3.11.1	COLETA SANGUÍNEA.....	47
3.11.2	CREATINOQUINASE.....	47
3.11.3	LACTATO DESIDROGENASE (LDH).....	48
3.11.4	MALONDIALDEÍDO.....	48
3.11.5	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL.....	48
3.8.6	NITRITO PLASMÁTICO.....	49
3.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50
	APÊNDICES.....	63
	APÊNDICE A - Artigo.....	64
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	90
	APÊNDICE C – Recordatório Alimentar de 24 horas.....	92
	APÊNDICE D – Questionário de Desconforto Gastrointestinal	93
	ANEXOS.....	94
	ANEXO A - Declaração do Comitê de Ética.....	95
	ANEXO B - Escala de Percepção Subjetiva de Esforço de BORG.....	96
	ANEXO C - Questionário Profile of Mood States (POMS).....	97
	ANEXO D - Escala de Sonolência de EPWORTH (ESE-BR).....	98

1 INTRODUÇÃO

Estas últimas décadas têm sido marcadas por um crescente aumento no volume de publicações indicando o efeito ergogênico de diversos alimentos. A redução da dor e da percepção subjetiva do esforço tem sido demonstrada com a ingestão de café (DEMURA; YAMADA; TERASAWA, 2007), cereja (KUEHL et al., 2010), e melancia (TARAZONA-DÍAZ et al., 2013). Diminuição na concentração de lactato, melhoria da capacidade aeróbia e no limiar anaeróbio através da ingestão do suco de laranja (APTEKMANN; CESAR, 2010) e óleo do hortelã-pimenta (MEAMARBASHI; RAJABI, 2013). Redução nos marcadores de lesão muscular através do consumo do óleo de pequi (MIRANDA-VILELA et al., 2009), e uva roxa (TOSCANO et al., 2015). Assim como, o aumento do tempo até a exaustão com uva roxa (TOSCANO et al., 2015), óleo de hortelã-pimenta (MEAMARBASHI; RAJABI, 2013), mel (ABBEY; RANKIN, 2009) e café (ABBEY; RANKIN, 2009).

Diante deste cenário, a beterraba tem sido o alimento com maior corpo de evidências que indicam seu efeito ergogênico. A suplementação crônica (5 a 15 dias) de nitrato dietético, seja na forma de suco de beterraba ou nitrato de sódio tem demonstrado promover redução na percepção subjetiva do esforço (MURPHY et al., 2012), melhoria no consumo de oxigênio (BAILEY et al., 2009; BAILEY et al., 2010; LANSLEY et al., 2011a; LARSEN et al., 2010; CERMAK et al., 2012b) e melhora no desempenho em testes até a exaustão (LANSLEY et al., 2011a; CERMAK et al., 2012). Mesmo uma única dose de suco de beterraba se mostrou capaz de promover melhorias para o desempenho de corredores recreacionais (MURPHY et al., 2012) e de ciclistas em prova contra-relógio (LANSLEY et al., 2011b). Devido ao razoável volume de publicações, revisões de literatura já foram publicadas, todas atestando o efeito ergogênico da beterraba, especialmente em atletas recreacionais (CLEMENTS; LEE; BLOOMER, 2014; JONES, 2014; PAWLAK-CHAOUCH et al., 2016).

Justamente os resultados promissores deste alimento no contexto esportivo, estimulam e tornam necessários estudos que supram algumas lacunas para que este alimento tenha comprovações científicas robustas quanto aos seus efeitos ergogênicos. Uma das lacunas mais evidentes é quanto aos mecanismos que explicam porque atletas tem desempenho melhorado com a beterraba. Embora apresente antioxidantes, como as betalainas (betacianina e betaxantina) (REDDY; ALEXANDER-LINDO; NAIR, 2005; TESORIERE et al., 2008), compostos fenólicos como rutina, epicatequina e ácido caféico (MANACH; MAZUR; SCALBERT, 2005; GEORGIEV et al., 2010), e alta concentração de nitrato (NO₃-), os

estudos prévios tem apontado para o nitrato como explicação para o primoramento da capacidade física aeróbia de atletas.

Na revisão de Jones (2014), os autores indicam que os mecanismos envolvidos na melhoria do desempenho promovida pela beterraba são vasodilatação, angiogênese, respiração mitocondrial, biogênese mitocondrial, captação de glicose, redução no consumo de ATP, devido efeito sobre o retículo sarcoplasmático de cálcio (Ca^{2+}). Esses mecanismos estão associados com a produção de óxido nítrico que está aumentada por causa do alto conteúdo de nitrato na beterraba.

Mesmo considerando que as evidências indicam o aumento da produção de óxido nítrico como mecanismo do efeito ergogênico, outro fator que tem sido pouco considerado é que a beterraba é rica em antioxidantes. É sabido que sessões de exercício promovem importante estresse oxidativo (FATOUROS et al., 2006; KREHER et al., 2012), e que este fenômeno está envolvido na etiologia do *overtraining* (WYATT; DONALDSON; BROWN et al., 2013; GHOLAMNEZHAD et al., 2014), fenômeno caracterizado por perda de desempenho de atletas por excesso de treino, repouso e nutrição inadequados. Estudos recentes tem mostrado que alimentos ricos em antioxidantes como a uva (TOSCANO et al., 2015), e o gergelin (BARBOSA et al., 2017), promoveram melhora do rendimento físico de atletas acompanhado por aumento da capacidade antioxidante.

Diante destas evidências, pode-se hipotetizar que um aumento da capacidade antioxidante pode ser mais um mecanismo pelo qual a beterraba aprimora o desempenho físico. Entretanto, até o momento não foi possível confirmar esta hipótese, pois apenas Clifford et al., (2014a) investigaram o papel da beterraba em atenuar o estresse oxidativo e não encontraram efeito significativo.

Além disso, durante o exercício, ocorre desgaste tecidual do músculo esquelético, o que contribui para a perda de desempenho (CHAPMAN et al., 2006), sendo este um dos mecanismos mais clássicos para a fadiga em exercícios de longa duração. Apesar deste fenômeno, se a beterraba minimiza o dano muscular é algo que ainda tem sido pouco explorado para este alimento. Dos poucos estudos que investigaram uma possível ação da beterraba em reduzir o dano muscular para explicar o efeito ergogênico da beterraba, esta hipótese não se confirmou (CLIFFORD et al., 2016b; BETTERIDGE et al., 2016).

Diante destas lacunas, este trabalho se insere com a proposta de promover avanços no entendimento dos efeitos ergogênicos da beterraba por explorar os mecanismos ainda pouco investigados, particularmente no estresse oxidativo e no dano muscular promovido por

sessões de exercício intenso. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da suplementação do suco de beterraba sobre estresse oxidativo, desgaste muscular e desempenho de corredores recreacionais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 EFEITOS DO ESTRESSE OXIDATIVO E DANO MUSCULAR NO DESEMPENHO FÍSICO

2.1.1 BALANÇO REDOX

O exercício físico, tanto o aeróbio quanto o anaeróbio, pode promover adaptações benéficas morfofuncionais e metabólicas no organismo. No entanto, quando realizado de forma exaustiva por um longo período de tempo, como no treinamento esportivo, pode levar o organismo a danos celulares e teciduais. Por sua vez, devido à elevada atividade metabólica celular ocorre à produção excessiva de substâncias tóxicas como, por exemplo, espécies reativas de oxigênio (ERO's), conhecidas como radicais livres (SCHENEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Os radicais livres são moléculas altamente reativas que possuem um elétron desemparelhado em sua órbita externa. Esta condição resulta em instabilidade e confere uma característica reativa, de modo que o átomo precisa receber ou doar elétrons para se estabilizar. O ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxila ($OH^\cdot$) e o óxido nítrico (NO) são exemplos de radicais livres e que são produzidos durante o exercício físico de alta intensidade (DRÖGE, 2002), sobretudo na mitocôndria (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006).

A lipoperoxidação é o principal mecanismo pelo qual as espécies reativas causam lesão celular. Trata-se da oxidação da camada lipídica da membrana celular, que consiste em danos as proteínas e aos fosfolipídios da membrana celular (SCHENEIDER; OLIVEIRA; 2004; FILAIRE et al., 2011). Isto resulta em perda de funções biológicas, inclusive ao DNA mitocondrial (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004; GOMES; SILVA; OLIVEIRA, 2012).

Para evitar a ação do estresse oxidativo e neutralizar os danos desencadeados pelas sínteses de ERO's e outras espécies reativas, há um sistema endógeno capaz de minimizar esses efeitos, conhecido como sistema de defesa antioxidante (HALLIWELL, 2011). O sistema de defesa antioxidante é dividido em enzimático e não-enzimático. O enzimático inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), sendo que o perfeito equilíbrio entre essas enzimas é importante na manutenção da integridade e

reparo celular (SCHENEIDER; OLIVEIRA, 2004). O sistema não-enzimático é formado por compostos sintetizados pelo organismo como a bilirrubina, ceruloplasmina, hormônios sexuais, melatonina, coenzima Q, ácido úrico e também os que são ingeridos através da alimentação ou suplementação de antioxidantes, como o ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), β - caroteno (precursor de vitamina A) e flavonoides (DRÖGE, 2002; SCHENEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Dessa forma, o estresse oxidativo é ocasionado por uma condição de desequilíbrio entre os sistemas oxidantes e antioxidantes, na qual ocorre maior produção de radicais livres pelas células em relação à capacidade de remoção pelo sistema antioxidante (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). Entretanto, quando o sistema de defesa antioxidante consegue evitar os efeitos nocivos das espécies reativas, diz-se que o organismo alcançou um balanço redox (LEOPOLD; LOSCALZO, 2008).

Durante o exercício, especialmente o aeróbio, o fornecimento de O_2 para os tecidos é cerca de 100 a 200 vezes maior que em repouso. Sendo assim, ocorre aumento exacerbado dessas espécies reativas (CRUZAT et al., 2007). Entretanto, a prática regular de exercícios físicos e de intensidade moderada é capaz de alterar de forma positiva a homeostase oxidativa de células e tecidos, através da diminuição dos danos oxidativos (COOPER et al., 2002; RADAK; CHUNG; GOTO, 2008). Este fenômeno é justificado pelo fato de que o estresse oxidativo que ocorre no organismo dispara um efetivo sistema de defesa, a síndrome de adaptação geral, na qual a atividade antioxidante endógena encontra-se em níveis mais elevados em relação ao estresse oxidativo induzido pelo exercício (RAMEL; WAGNER; ELMADFA et al., 2004).

Como consequência, após a prática de exercícios ocorre uma melhoria da capacidade do sistema antioxidante, especialmente o enzimático (CRUZAT et al., 2007). De fato, estudos tem mostrado que praticantes de exercício de intensidade moderada apresentam aumento da atividade da catalase (CASTRO, 2003; OLIVEIRA et al., 2004), glutathione peroxidase (OLIVEIRA et al., 2004) e superóxido dismutase (CRUZAT et al., 2007).

Por outro lado, exercícios intensos e prolongados com pequenos períodos de recuperação entre as sessões fazem com que a promoção de espécies reativas supere a capacidade antioxidante do organismo, mesmo depois do processo adaptativo. Isto fica bem demonstrado em casos do fenômeno denominado *overtraining* ou síndrome do excesso de treinamento. O *overtraining* caracteriza-se principalmente pelo decréscimo no desempenho e distúrbio neuroimunoendócrino (GHOLAMNEZHAD et al., 2014), devido cargas excessivas de treinamento, além de recuperação e nutrição inadequadas (ROBSON, 2003; HALSON;

JEUKENDRUP, 2007). Segundo Smith (2000), a teoria das citocinas é considerada a mais aceita para explicar a síndrome do *overtraining*. Trata-se de uma inflamação sistêmica que se instala cronicamente a partir da ativação de monócitos circulantes, que por sua vez sintetizam citocinas pró-inflamatórias, e é acompanhado por importante aumento do estresse oxidativo, dentre outros fenômenos neurais, hormonais e comportamentais (WYATT; DONALDSON; BROWN, 2013).

2.1.2 DANO MUSCULAR INDUZIDO PELO EXERCÍCIO FÍSICO

O dano muscular induzido pelo exercício (DMIE) é geralmente ocasionado por exercícios extenuantes que geram estresse nos sistema musculoesquelético, provocando perturbações nos sistemas nervoso, imune e endócrino, bem como uma maior formação de ERO's (GIRARD; MENDEZ-VILLANUEVA; BISHOP, 2011). Alguns mecanismos podem explicar as causas que levam ao dano muscular, tais como desorganização de sarcômeros, disfunção de acoplamento excitação-contração, degradação de proteína contrátil e inflamação (CLARKSON; HUBAL, 2002; HYLDAHL; HUBAL, 2014).

Dessa forma, o dano muscular pode ser evidenciado por aumento na atividade plasmática da creatina quinase - CK e lactato desidrogenase – LDH, citocinas pró-inflamatórias e alterações clínicas, como menor amplitude de movimento, fraqueza muscular e dor muscular de início tardio (DMIT), que aparece algumas horas após o esforço (LE MOAL et al. 2017).

O dano muscular prejudica a capacidade de continuar o exercício, sendo demonstrado em estudo com atletas de diferentes provas (5 Km, maratona e triathlon). Pode-se verificar que os sujeitos tiveram um pico das enzimas Creatina Kinase (CK), Aspartato Amino Transferase (AST) e Lactato desidrogenase (LDH), um dia após a corrida de resistência. Os atletas que tiveram uma maior atividade da CK apresentaram fadiga intensa (SUZUKI, 2002).

Além de participar da fadiga aguda e crônica, o dano muscular ainda interage fisiologicamente tanto com o processo do estresse oxidativo quanto com a etiologia do *overtraining*. A inflamação é considerada um processo benéfico quando relacionada ao treinamento físico regular, uma vez que é um mecanismo necessário para ativar processos de regeneração das estruturas danificadas pelo treinamento (ZALDIVAR et al., 2006). Na maioria das vezes, os microtraumas teciduais adaptativos resultam em uma resposta

inflamatória moderada e local (ROBSON, 2003; SMITH, 2004). No entanto, quando uma recuperação adequada não é alcançada por aqueles que praticam treinamentos de alta intensidade, a inflamação aguda e local, evolui para um quadro crônico e de nível sistêmico (SMITH, 2000; ROGERO; MENDES; TIRAPEGUI, 2005), participando da disfunção neuroimunoendócrina que caracteriza o fenômeno do *overtraining*, comprometendo o desempenho físico (SMITH, 2004; KREHER; SCHWARTZ, 2012).

2.2 ALIMENTOS COMO RECURSO ERGOGÊNICO

A partir do final da primeira década deste século, surgiu uma linha de pesquisa com número de publicações crescentes ao longo dos anos, mostrando que diversos alimentos têm potencial ergogênico, por melhorar o desempenho de atletas recreacionais e de alto nível, diminuir as atividades oxidantes e inflamatórias induzidas pelo exercício físico (YAVARI et al., 2105).

Estudos têm mostrado melhorias da capacidade aeróbica e redução da produção de lactato fornecidos pelo suco de laranja e hortelã-pimenta (APTEKMANN; CESAR, 2010; MEAMARBASHI; RAJABI, 2013), redução nos marcadores de lesão muscular através da ingestão de pequi, *blueberry* e uva roxa (MIRANDA-VILELA et al, 2009; MCLEAY et al, 2012; TOSCANO et al., 2015), redução da dor e da percepção do esforço com café, cereja e melancia (DEMURA; YAMADA; TERASAWA, 2007; KUEHL et al., 2010; TARAZONA-DÍAZ et al., 2013).

O consumo crônico (três meses) de 500 mL/d de suco de laranja mostrou ser eficaz em reduzir a concentração de lactato e melhorar o desempenho em testes realizados após treinamento aeróbio por uma hora, três vezes por semana, em mulheres (APTEKMANN, CESAR, 2010). Para Meamarbashi, Rajabi (2013), a ingestão de óleo essencial de hortelã-pimenta (0,05 mL) em 500 mL de água mineral por dez dias resultou em redução na concentração de lactato e melhora no desempenho em teste até a exaustão realizado após a suplementação em jovens saudáveis. Em outro estudo, o consumo de *blueberry* (200 g) antes e depois do exercício excêntrico extenuante de quadríceps mostrou-se eficaz em acelerar a recuperação da força muscular. Também proporcionou melhora na regulação de processos antioxidantes em atletas recreacionais do gênero feminino (MCLEAY et al., 2012).

Miranda-Vilela et al. (2009), investigaram os efeitos anti-inflamatórias do óleo de pequi. Corredores do gênero masculino e feminino foram suplementados com 400 mg de cápsulas de óleo de pequi, durante 14 dias. Os resultados mostraram que o óleo atenuou a inflamação, além de reduzir a pressão arterial. O estudo de Kuehl et al. (2010) mostrou que 355 mL de suco de cereja duas vezes ao dia durante sete dias antes da corrida foi eficaz em atenuar a dor muscular em corredores recreacionais.

A ingestão aguda de 200 mL de café (teor de cafeína de 6 mg/kg de massa corporal) mostrou reduzir a percepção de esforço durante exercício submáximo em dez jovens adultos saudáveis. Os participantes realizaram um exercício submáximo em ciclo ergométrico correspondente a 60% da capacidade máxima de consumo de oxigênio durante 60 minutos (DEMURA; YAMADA; TERASAWA, 2007). Em estudo de Tarazona-Díaz et al. (2013), a ingestão aguda de 500 mL de suco de melancia (1,17 g de l-citrulina) atenuou a dor muscular após 24 h de um teste de esforço máximo em cicloergômetro em atletas.

A suplementação crônica (28 dias) do suco de uva roxa em corredores recreacionais resultou em aumento no tempo do teste até a exaustão, associado ao aumento na atividade antioxidante e redução dos marcadores inflamatórios (TOSCANO et al., 2015). Enquanto, o consumo agudo do mel (total de carboidratos 1,0 g/kg) antes e durante uma simulação de futebol por 90 min, seguido de um teste até a exaustão não melhorou o desempenho. Entretanto, atenuou a inflamação em jogadores de futebol treinados (ABBEY; RANKIN, 2009).

2.3 EVIDÊNCIAS DOS BENEFÍCIOS PROMOVIDOS PELA BETERRABA

O NO_3^- é encontrado principalmente na dieta (> 80%) como componente inorgânico de vegetais, tendo como fontes predominantes alface, rabanete, espinafre e a beterraba (TAMME et al., 2006). O NO_3^- é um ânion poliatômico inorgânico que existe naturalmente no ambiente, presente tanto no ar como na água potável, bem como em alimentos cárneos, e é produzido endogenamente a partir da ação catalítica da enzima Óxido Nítrico Sintase (NOS) através da oxidação do aminoácido L-arginina (LUNDBERG; WEITZBERG; GLADWIN, 2008).

No contexto da saúde os valores em relação à ingestão dietética diária de NO_3^- são bem divergentes. A *Food Agriculture Organization* (FAO) e a Organização Mundial da Saúde

(OMS) estabeleceram como concentrações admissíveis, a dose diária de 3,65mg do íon nitrato por kg de peso corporal, o que traduz o equivalente a 222 mg de nitrato para um adulto de 60 kg (WHO, 2004). Enquanto que a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos estima a ingestão de 7,0 mg de NO_3^- por kg de peso corporal por dia. Porém, a *Dietary Approaches to Stop Hypertension* (DASH) propõe uma ingestão alimentar bem superior, de forma que possa atingir valores superiores a 1200 mg/dia (~ 20 mmol) (HORD et al., 2009). Tem sido proposto que a dieta rica em NO_3^- pode ser tão eficaz quanto qualquer agente hipotensivo único para a redução da pressão arterial sistêmica (MARUTHUR; WANG; APPEL, 2009).

Historicamente, NO_3^- e nitrito (NO_2^-) foram considerados nocivos à saúde humana, pois poderiam causar a formação de N-nitrosaminas, que são potencialmente cancerígenas (TANNENBAUM et al., 1974). No entanto, revisões de literatura sobre NO_3^- e toxicologia animal, não indicaram evidências de carcinogênese ou mutagênese (CASSENS, 1995; BRYAN; LOSCALZO, 2011). O consumo de NO_3^- associado a frutas e vegetais antioxidantes foi demonstrado inibir a formação de nitrosaminas no meio gástrico (CASSENS, 1995). Em 2006, a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) analisou o risco cancerígeno em humanos juntamente com o consumo de NO_3^- e NO_2^- em fontes alimentares e de água potável de NO_3^- e NO_2^- e não encontraram evidências que apoiem a restrição de NO_3^- na dieta. Concluíram que a nitrosação endógena e o câncer gástrico foram associados a condições de baixa ingestão de vitamina C e altos níveis de NO_2^- , comumente encontrado em carnes curadas (GROSSE et al., 2006).

A beterraba (*Beta vulgaris*) apresenta além do NO_3^- , antioxidantes e micronutrientes, incluindo potássio, betaina, sódio, magnésio e vitamina C (GEORGIEV et al., 2010). A beterraba apresenta um grupo de pigmentos altamente bioativos conhecidos como betalaínas (betacianina de cor vermelho-violeta e betaxantina de cor amarelo-laranja) (NINFALI; ANGELINO et al., 2013; VULIĆ et al., 2014). As betalaínas apresentam alta capacidade antioxidante e antiinflamatória (VULIĆ et al., 2014).

Tem sido demonstrada recentemente propriedades anti-inflamatórias (DETOPOULOU et al., 2008) e terapêuticas para hipertensão arterial (JAJJA et al., 2014; GEE; AHLUWALIA, 2016), diabetes (WOOTTON-BEARD et al., 2011; GILCHRIST et al., 2014), melhora da perfusão cerebral (PRESLEY et al., 2011), aumento da capacidade para a prática de exercício físico em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e com insuficiência cardíaca (ZAMANI et al., 2015). Estes efeitos benéficos são atribuídos à alta concentração de NO_3^- presente na beterraba, cerca de 100 g desse vegetal contém em média 250 mg de nitrato (NO_3^-) [peso fresco] (SANTAMARIA et al., 2006).

O nitrato ao ser ingerido é absorvido através do duodeno e jejuno no intestino delgado, para a circulação sistêmica (LUNDBERG et al., 2008). A Figura 1 ilustra a via do NO_3^- do momento em que é ingerido, até sua absorção. Estima-se que 25% do nitrato da circulação entra no ciclo entero-salivar onde as espécies bacterianas anaeróbicas facilitam a converção via oral do NO_3^- em NO_2^- (LUNDBERG et al., 2009; HYDE et al., 2014). O NO_2^- deglutido quando em contato com o meio ácido no estômago é metabolizado em óxido nítrico (NO) e outros óxidos de azoto por uma variedade de enzimas redutase, enquanto que o NO_2^- remanescente entra na circulação sistêmica (LUNDBERG et al., 2009). O NO é reconhecido por suas funções na regulação fisiológica de fluxo e pressão sanguínea através de sua capacidade vasodilatadora, além de suas funções (GLADWIN et al., 2005, LUNDBERG et al., 2008).

Estudos têm mostrado que o aumento na produção de NO e consequente capacidade vasodilatadora, tem ação ampliada da saúde para o contexto esportivo. Alguns mecanismos poderiam explicar os efeitos da suplementação de NO_3^- envolvidos no desempenho físico. As condições fisiológicas de hipóxia maximizam a conversão de NO_2^- em NO, proporcionando aumento do fluxo de sangue local, melhora da perfusão de O_2 (FERGUSON et al., 2013) e aporte de nutrientes (por exemplo, aminoácidos e glicose), auxiliando, portanto, no desempenho para o exercício (BAILEY et al., 2009). Além disso, tem sido demonstrado que a ingestão de NO_3^- poderia promover redução no custo de ATP associada com a produção de força, promovendo assim a eficiência contrátil do músculo (BAILEY et al., 2010), além de melhorar a eficiência da fosforilação oxidativa (LARSEN et al., 2011).

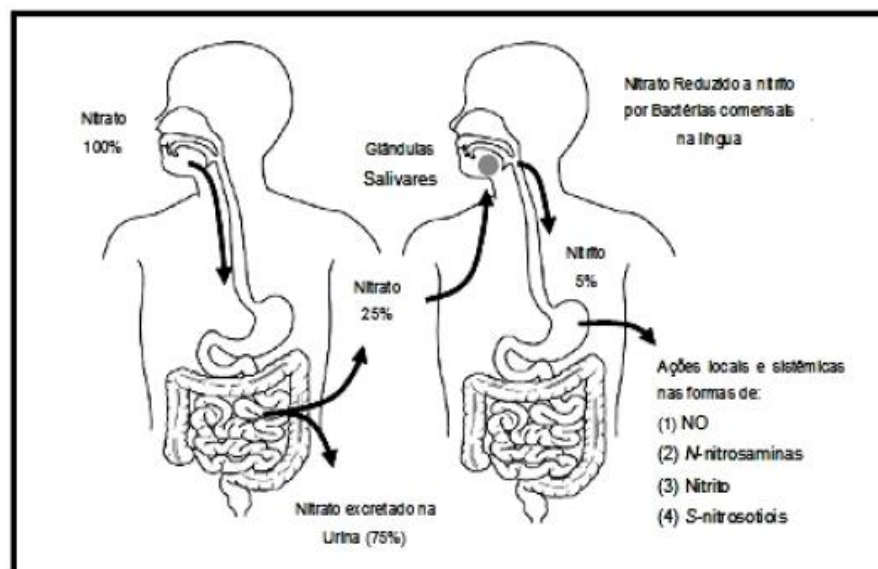


Figura 1: Via entero salivar da absorção do NO_3^- (BERNARDI, 2016).

Sendo assim, tanto a beterraba quanto o NO_3^- isolado tem se mostrado capaz de promover redução no consumo de oxigênio para uma mesma intensidade de esforço, na percepção subjetiva de esforço, melhora do desempenho em testes até exaustão e contra-relógio em atletas recreacionais e de alto nível. Estes estudos estão apresentados na tabela 1 e pormenorizados nos parágrafos seguintes.

Diversos estudos (Tabela 1) trazem a suplementação crônica e aguda do suco de beterraba no contexto esportivo, com diversos protocolos de exercício e suplementação. Bailey et al., (2009) investigaram a influência do consumo de 500 mL/dia de suco de beterraba (5,5 mmol NO_3^-) ou Placebo ($\sim 0,01$ mmol de NO_3^-) durante 6 dias em oito homens ativos recreacionalmente. Os exercícios foram realizados nos últimos três dias de suplementação. No 4º dia foram realizados dois exercícios em bicicleta por seis minutos (intensidade moderada-80% do limiar anaeróbio) e nos 5º e 6º dias foi realizado exercício de moderada intensidade + teste até exaustão, separados por 25 minutos de recuperação. O tempo até a exaustão aumentou significativamente nos 5º e 6º dias.

Em outro estudo de Bailey et al., (2010), sete homens ativos recreacionalmente consumiram 500 mL/dia de suco (5,1 mmol de NO_3^- /dia) ou Placebo (suco de groselha preta com $\sim 0,01$ mmol de NO_3^-) durante seis dias e realizaram exercícios em bicicleta ergométrica nos últimos 3 dias para a determinação do metabolismo muscular (usando espectroscopia de ressonância magnética) e VO_2 max. No 4º dia foram realizados dois exercícios de 6 minutos em bicicleta ergométrica (intensidade moderada). Nos 5º e 6º dias: 6 min. em bicicleta ergométrica + teste até exaustão, separados por 25 min. de recuperação. Durante o exercício de moderada intensidade, o suco atenuou a redução da concentração de fosfocreatina muscular. O tempo para realização do teste até a exaustão aumentou, e a taxa total de ATP foi estimada ser menor tanto no exercício de moderada intensidade como no de alta intensidade.

No estudo de Nyakayiru et al., (2016) dezessete ciclistas do sexo masculino completaram 30 minutos de exercício a 45% de W_{max} e 30 minutos a 65% de W_{max} em cicloergômetro, seguidos de um teste até a exaustão de 10 km. Os sujeitos foram suplementados em três condições diferentes: 5 dias de placebo + 1 dia de nitrato de sódio (1097 mg, $\sim 12,9$ mmol/ NO_3^- /dia) (1 D); 6 dias de nitrato de sódio (6 D), e seis dias com placebo ($\sim 0,01$ mmol de NO_3^-), 3 h antes do exercício. Antes do exercício, as concentrações plasmáticas de nitrito aumentaram de forma semelhante durante as condições de suplementação 6 D e 1 D. Não foram observadas diferenças entre as intervenções em relação ao teste até a exaustão.

Sete homens ativos recreacionalmente, ingeriram 70 mL de suco de beterraba (6,2 mmol de NO_3^-) ou bebida placebo (cloreto de sódio-NaCl, 0,1 mmol/kg) por nove dias. Os sujeitos realizaram quatro minutos em cicloergômetro a 20 W, seguido de um teste até à exaustão (80% VO_2 max) nos dias 4, 5, 8 e 9 de suplementação. A cadência do pedal de 35 rpm foi aplicada nos dias 4 e 5, e de 115 rpm nos dias 8 e 9. A concentração de NO_2^- no plasma aumentou 178% com a suplementação de 70 mL de suco. O exercício realizado com cadência do pedal a 115 rpm apresentou melhor tolerância ao exercício, demonstrado no teste até à exaustão (BAILEY et al., 2015).

Breese et al. (2013) suplementaram nove indivíduos recreacionalmente ativos com 140mL/dia do suco, 8 mmol de NO_3^- ou Placebo ($\sim 0,01$ mmol de NO_3^-) por seis dias. Eles consumiram o suco 2 h antes de um protocolo de exercício em ciclo ergométrico. O protocolo ocorreu em três dias consecutivos (do 4º ao 6º dia de suplementação), sendo 4 min em intensidade moderada e 6 min em alta intensidade. Após 24 horas do último treino, foi realizado um teste até a exaustão. Houve aumento no tempo do até exaustão, sem alteração no lactato produzido.

Em outro estudo com doze ciclistas bem treinados do gênero masculino, a suplementação ocorreu por seis semanas com 140 mL/dia de suco de beterraba (~ 8 mmol/ NO_3^-) ou Placebo. Os indivíduos realizaram dois ensaios separados por 14 dias (14 dias antes e no último dia da suplementação). Cada ensaio consistiu de 60 min de ciclismo em intensidade submáxima (30 min a 45% do W_{max} e os outros 30 minutos a 65% do W_{max}), seguida por um prova contra-relógio de 10 km. Ocorreu redução do consumo de oxigênio nos 60 minutos de ciclismo e melhora do desempenho no contra-relógio, enquanto que as variáveis FC, lactato, glicose e insulina não se modificaram de forma significativa (CERMAK et al., 2012b).

Lansley et al. (2011a) avaliaram as respostas fisiológicas do exercício em resposta a suplementação de 500 mL/dia de suco de beterraba (6,2 mmol de NO_3^-), ou Placebo ($\sim 0,01$ mmol de NO_3^-), 2,5 h antes do exercício, durante 6 dias. Nove homens fisicamente ativos completaram 6 minutos de corrida de moderada intensidade (80% do limiar anaeróbio) em dois momentos (4º e 5º dias), terminando com um teste até a exaustão. A transição dos exercícios foi realizada de forma abrupta, sendo separados por 10 min de caminhada a 4km/h. Resultando em melhora no tempo até exaustão, sem afetar a capacidade muscular oxidativa ou lactato.

Na pesquisa realizada por Larsen et al. (2007), nove indivíduos bem treinados, do sexo masculino, consumiram 0,1 mmol/kg por dia de NO_3^- ou a mesma quantidade de cloreto de

sódio (placebo) durante 3 dias antes de completar um exercício em intensidade moderada em cicloergométrico por 60 minutos. Os resultados demonstraram redução significativa no consumo de oxigênio, sem alteração significativa na produção de lactato.

No estudo de Clifford et al., (2016a), vinte jogadores do sexo masculino, jogadores de futebol (n = 10), rugby (n = 5), basquete (n = 2) hóquei (n = 2) ou handebol (n = 1) consumiram suco de beterraba ou bebida placebo (abóbora, proteína em pó isenta de sabor e Maltodextrina em pó), durante três dias. Foram 500 mL de suco no dia da corrida, após 24 h e 48 h pós-exercício. Contrações voluntárias isométricas máximas (MIVC), limiar de dor (PPT), creatina quinase (CK) e hidroperóxidos lipídicos (LOOH), foram medidos. As contrações voluntárias isométricas máximas recuperaram mais rapidamente com o suco de beterraba 72 após a 1ª corrida. O limiar de dor foi 10,4% maior com o suco 24 h após a 2ª corrida. Nenhuma diferença foi observada em relação desempenho ou estresse oxidativo.

Estudos também tem demonstrado o efeito agudo do suco de beterraba, ou seja, a suplementação com uma única dose. Lansley et al. (2011b) investigaram a suplementação aguda do suco de beterraba em nove ciclistas recreacionais do sexo masculino. Os indivíduos completaram 4-km de uma prova contra-relógio seguida de outra prova de 16,1 km após 2h e 30 min da ingestão de 500 mL do suco (6,2 mmol de nitrato) ou Placebo (~ 0,01 mmol de NO₃). Como resultado houve menor tempo gasto na conclusão do contra-relógio.

No estudo de Bescós et al. (2011), onze ciclistas treinados e triatletas do sexo masculino ingeriram 10 mg·kg⁻¹ de nitrato de sódio (NaNO₃) ou placebo (Cloreto de sódio-NaCl dissolvido em 250 mL de água) 3 horas antes do exercício. Os sujeitos realizaram exercício submáximo em ciclo-ergômetro com quatro cargas cada, a 2,0, 2,5, 3,0 e 3,5 W · kg⁻¹ de massa corporal, por 6 min intercalados com 3 min de recuperação passiva. Após um período de recuperação de 5 min, os sujeitos realizaram um teste de esforço até a exaustão. O nitrato e o nitrito plasmático aumentaram significativamente três horas após a suplementação, também houve melhor tolerância ao exercício, observado pelo teste até à exaustão.

Betteridge et al. (2016), investigaram o efeito do suco de beterraba (~8 mmol NO₃⁻, Placebo (~ 0,01 mmol de NO₃⁻) ou beterraba + antisséptico bucal em oito homens saudáveis ativos recreacionalmente. Após duas horas e meia, os participantes pedalarão 60 minutos a 65% do VO₂ max. A concentração de nitrito no plasma aumentou significativamente (~130%) com o suco de beterraba. Entretanto, beterraba ou beterraba + antisséptico bucal não promoveram nenhum efeito significativo sobre redução do glicogênio muscular, fosfocreatina, lactato, e fosforilada acetil-CoA carboxilase durante o exercício. O antisséptico bucal impediu o aumento da concentração plasmática de NO₂⁻. De fato, em todos os estudos que avaliaram o

efeito da beterraba, os autores solicitaram aos voluntários que não usassem antissépticos bucais.

Murphy et al. (2012) investigaram o consumo agudo de 200 g de beterraba cozida (500 mg ou 8 mmol de NO_3^-) ou placebo (cranberries cozidas) em onze atletas recreacionais de ambos os gêneros, sendo 6 mulheres. Os resultados mostraram que a suplementação 75 minutos antes do exercício, tornou um contra-relógio de 5 km em esteira mais rápido, com menor percepção subjetiva de esforço.

Dez remadores do sexo masculinos altamente treinados consumiram uma dose de 70mL (4,2 mmol de NO_3^-) ou 140mL (8,4 mmol de NO_3^-) de suco de beterraba ou placebo (0 mmol de NO_3^-) 2 horas antes de completar um contra-relógio em ciclo ergométrico de 2000 m. Um efeito benéfico foi encontrado em relação ao desempenho com dose de 140 mL, além de maior concentração de nitrito com essa dose (HOON et al., 2014a).

Peeling et al. (2014) avaliaram a ingestão aguda do suco de beterraba no desempenho de atletas de caiaque treinados. No estudo A, atletas de nível nacional masculino ($n = 6$) completaram um teste de desempenho máximo de esforço de 4 min em ergômetro de caiaque. No estudo B, atletas de nível internacional feminino ($\text{VO}_{2\text{pico}} 47,8 \pm 3,7$) ($n = 5$) completaram um contra-relógio de caiaque em água de 500 m. No estudo A, os atletas receberam 70 mL do suco ($\sim 4,8$ mmol de NO_3^-) ou placebo 2,5 horas antes do exercício. No Estudo B, os atletas receberam 140 mL de suco ($\sim 9,6$ mmol de NO_3^-) ou placebo 2 horas antes. A suplementação com 140 mL resultou em melhorias no desempenho de contra-relógio 500 m, sendo 2,0 s mais rápido.

No estudo de Shannon et al., 2017 oito corredores bem treinados ou triatletas realizaram dois testes até a exaustão em uma esteira ergométrica (1500 ou 10 000 m), com intervalo de 5 dias entre os testes. Os atletas ingeriram 140 mL de suco de beterraba ($\sim 12,5$ mmol de NO_3^-) ou bebida placebo ($\sim 0,01$ mmol de NO_3^-) 3 h antes do exercício. O desempenho no teste até a exaustão 1.500 m foi significativamente mais rápido com o suco. Por outro lado, não houve diferença no teste até a exaustão de 10. 000 m.

A despeito de um razoável corpo de evidência indicando efeito ergogênico com protocolos de suplementação tanto crônica quanto aguda, existem estudos nos quais estes efeitos não foram evidenciados, mesmo considerando que as variáveis avaliadas foram às mesmas. Cermak et al. (2012 a) avaliaram vinte ciclistas treinados do gênero masculino após a ingestão de uma dose de suco de beterraba (140 mL, 8,7 mmol NO_3^-) 2,5 horas antes de uma prova contra-relógio. Porém, os resultados mostraram que o suco não afetou significativamente o desempenho em teste de contra-relógio, lactato, CK, IL-6, IL-8, $\text{TNF}\alpha$.

Boorsma et al, 2014, investigaram a influência aguda e crônica (8 dias) do suco de beterraba em corredores de 1500 metros. Nos dias 1 e 8 os indivíduos receberam 210 mL do suco (19,5 mmol de NO_3^-) 2 horas e 30 minutos antes de uma prova contra-relógio de 1500m em pista coberta e nos dias 2 a 7 receberam 140 mL (13,0 mmol de NO_3^-). Nenhum dos protocolos influenciou o consumo de oxigênio ou desempenho na prova contra-relógio.

Em outro estudo, 10 esquiadores juniores de elite consumiram nitrato de potássio em cápsula (614 mg de NO_3^- , cerca de 9,9 mmol) ou uma cápsula com 1 g de maltodextrina (Maxi Nutrition, Hertfordshire, RU) e 500 mL de água 2,5 horas antes de dois testes submáximos de 5 minutos, sendo a 10 km (55% do VO_2 max) e 14 km (75% do VO_2 max). Após os testes realizaram recuperação de 15 minutos, seguidos de um contra relógio de 5 km em pista de 250 m. As concentrações plasmáticas de nitrito aumentaram após a suplementação, porém o desempenho não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (PEACOCK et al., 2012)

Oito homens ciclistas bem treinados realizaram um teste de contra-relógio de 50 milhas em ciclo ergométrico 2,5 h após consumir 500 mL de suco de beterraba (~6.2 mmol de NO_3^-) ou um Placebo (~0,03 mmol de NO_3^-). A suplementação com o suco não melhorou significativamente o desempenho (WILKERSON et al. 2012).

Os exercícios realizados em altitude também podem se beneficiar com a ingestão do suco de beterraba. Kelly et al. (2014) avaliaram a suplementação por 3 dias com 140 mL do suco (~ 8,4 mmol de NO_3^- /dia), no 3º dia a ingestão foi realizada 2,5h antes do exercício. Houve quatro condições experimentais: 1) Hipóxia-Suco (H-BT); 2) Hipóxia-PL (H-PL); 3) Normóxia-Suco (N-BT); 4) Normóxia-PL (N-PL). Doze sujeitos do sexo masculino, fisicamente ativos realizaram dois exercícios de intensidade moderada (80% limiar anaeróbio) em ciclo ergométrico por 5 minutos e um teste até a exaustão, com intervalo de 6 minutos de recuperação passiva entre os exercícios. O Tempo de exaustão foi registrado quando a taxa do pedal caiu 10 rpm abaixo da taxa de pedal de 80 rpm. A tolerância no teste até a exaustão foi melhorada em condições de hipóxia.

Em outro estudo, vinte e dois homens saudáveis foram suplementados por 6 semanas com 500 mL de suco de beterraba (700 mg de NO_3^-), ou bebida controle (suco de maçã e groselha). No dia do teste a suplementação era realizada entre 2 h a 2,5h antes do exercício. Os indivíduos participaram por 6 semanas (5×30 min/semana) de cinco sessões de treinamento em bicicleta ergométrica. Cada sessão começou com um aquecimento de 9 minutos (3 min a 70%, 3 min a 80% e, 3 min a 90% da carga de trabalho de treinamento). As sessões terminaram com um resfriamento de 10 minutos a 50 W. A suplementação dietética

de NO_3^- não melhorou o desempenho em exercício intermitente de altitude (PUYPE et al., 2014).

No estudo de Arnold (2015), dez corredores bem treinados do sexo masculino completaram um contra-relógio 10 km a 2500 m em altitude, após a suplementação aguda 70mL de suco de beterraba com ~ 7 mmol de NO_3^- ou placebo (baixa concentração de NO_3^-), 2,5 h antes do exercício. O custo do oxigênio, saturação arterial de oxigênio, frequência cardíaca e percepção subjetiva de esforço (PSE) não apresentaram efeitos benéficos significativo com a suplementação. Demonstrando assim, que a suplementação aguda de NO_3^- não melhorou o desempenho de atletas bem treinados em hipóxia normobárica.

Diversos estudos também investigaram o efeito do suco de beterraba em exercícios intermitentes. No estudo de Bond, Morton, Braakhuis (2012) quatorze remadores juniores do sexo masculino consumiram por 6 dias, 500 mL de suco de beterraba (5,5 mmol/dia de NO_3^-), 250 mL pela manhã, 250 mL a tarde ou placebo (suco de groselha preta, com baixa concentração de NO_3^-). No sexto dia do período de suplementação realizaram um teste de esforço, 6 x 500-m em ergômetro de remo, com repetições em intensidade máxima, e aproximadamente 90s de recuperação entre as repetições. Em todas as repetições, o tempo de desempenho com o suco de beterraba foi melhor. Não foram encontradas diferenças significativas em relação à frequência cardíaca máxima, saturação arterial de oxigênio e lactato.

Em estudo de Hoon et al., (2014b) vinte e oito ciclistas treinados realizaram dois exercícios (E1 e E2) de quatro minutos em ciclo-ergômetro separados por 75 minutos, sob a instrução de alcançar a maior potência média possível. Os sujeitos consumiram 70 mL de suco de beterraba (4,1 mmol de NO_3^-) ou placebo (0,03 mmol de NO_3^-) 150 min e 75 min antes de E1 e uma dose adicional 75 min antes de E2. A concentração de nitrito plasmático foi maior quando o suco foi tomado 75 min antes de E1. Porém, os tratamentos não apresentaram diferenças significativas em relação ao desempenho em atletas de alto rendimento.

No estudo de Wylie et al. 2013, 10 atleta recreacionais do sexo masculino completaram um protocolo de exercícios, sendo dois exercícios de 5 minutos em intensidade moderada e uma sessão de exercício até a exaustão em ciclo ergométrico. A exaustão foi registrada quando a velocidade do pedal caiu abaixo de 10 rpm. Com intervalos de 5 minutos de descanso passivo. Eles ingeriram 70, 140 ou 280 mL de suco de beterraba (contendo 4,2, 8,4 e 16,8 mmol NO_3^- , respectivamente) 2,5 horas antes do exercício. Após a ingestão aguda o nitrito plasmático aumentou de forma dependente da dose, com as mudanças de pico

ocorrendo aproximadamente 2-3 h. Doses com 140 e 280 mL aumentaram o tempo no teste até a exaustão em 14% e 12%, respectivamente.

Thompson et al. (2015) explorou o desempenho durante o exercício intermitente em 16 jogadores do sexo masculino (hóquei em campo, futebol e jogadores de rugby). Os atletas ingeriram 140 mL/dia de suco de beterraba (12,8 mmol de NO_3^- , ~ 800 mg) ou um placebo por 7 dias. No último dia, 2,5 horas após suplementação, eles completaram um teste de exercício intermitente em bicicleta ergométrica: o teste consistiu em um aquecimento de 10 minutos seguido por dois períodos de 40 minutos de exercício intermitente separados por 15 minutos de recuperação. O trabalho total realizado foi maior com o suco de beterraba (123 ± 19 kJ) em comparação com o placebo (119 ± 17 kJ; $P < 0,05$).

Em outro estudo, Thompson et al. (2016) investigaram a ingestão de 70 mL de suco de beterraba por 5 dias (6,4 mmol de NO_3^- /dia) em 36 jogadores de futebol, rugby e hóquei. No 5º dia, 2,5 horas após suplementação, os sujeitos completaram uma série de exercícios repetidos máximos de 20m, separados por um período de 30 s de recuperação, em seguida completaram um teste intermitente Yo-Yo de nível 1 (Yo-Yo IR1) até a falha. A beterraba melhorou o tempo em relação a bebida controle a 20m (1,2%; BR $3,98 \pm 0,18$ vs. PL $4,03 \pm 0,19$ s; $P < 0,05$), 10m (1,6%; BR $2,53 \pm 0,12$ vs. PL $2,57 \pm 0,19$ s; $P < 0,05$) e 5m (2,3%; BR $1,73 \pm 0,09$ vs. PL $1,77 \pm 0,09$ s; $P < 0,05$).

Ainda são escassos os estudos sobre os efeitos da beterraba em exercícios de força, entretanto, Clifford et al. (2016b) suplementaram 30 atletas recreacionais com uma dose elevada de suco de beterraba (250 mL) e uma dose baixa (125 mL) em três momentos: imediatamente, 24 horas e 48 horas após a conclusão de 100 saltos verticais. Após avaliar as contrações máximas isométricas voluntárias, eles observaram que o suco de beterraba com a dose de 250 mL melhorou o desempenho às 48h e 72h após os 100 saltos, além de ter promovido atenuação da dor muscular aguda com as duas doses em 24h, 48h, 72h após os saltos. Porém, nenhuma das duas doses do suco influenciou o estresse oxidativo ou inflamação.

No estudo de Kramer et al. (2016) 12 atletas de *crossfit* do sexo masculino foram suplementados durante 6 dias com 8 mmol de nitrato de sódio (2×4 mmol cápsulas, manhã - noite) ou placebo. A dose final de nitrato foi consumida 24 h antes do teste de desempenho. Os participantes completaram um protocolo de exercícios antes e após seis dias de suplementação: um teste de força máxima (30s Wingate), um contra-relógio (2 km) e CrossFit (protocolo de Grace). A força no teste Wingate máximo aumentou significativamente ao

longo do tempo com a suplementação ($889,17 \pm 179,69$ W a $948,08 \pm 186,80$ W). No entanto, o desempenho do *CrossFit* não foi alterado.

Tabela 1. Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico.

Autores	Amostra	Protocolo de	Protocolo de Exercício	Variáveis	Resultados
Arnold et al., (2015)	10 homens Corredores bem treinados (37±13 anos, 1,78±0,06m, 72±7 kg, VO2 max 66 ±7 mL.kg-1.min-1)	Uma dose de 70 mL de suco de beterraba (~ 7 mmol de NO ₃ ⁻) Placebo (concentração desprezível de NO ₃ ⁻) 2,5h antes do exercício	Contra-relógio de 10 Km em esteira, a uma altitude simulada de 2500 m.	Tempo do Contra-relógio SpO ₂ PSE Concentração de NO ₂ ⁻	→ (B: 2862 ± 233s; P: 2874 ± 265s) → → ↑ (B: 73 ± 226 nM; P: 61 ± 37 nM)
Bailey et al., (2009)	8 homens Ativos recreacionalmente (26±7 anos, 180±3cm, 82±6 kg, VO2 max 49 ±5 mL.kg-1.min-1)	6 dias, 500 mL/dia de suco de beterraba (5.5 mmol de NO ₃ ⁻) Placebo (NaCl, 0,1 mmol /kg) 2,5h antes do exercício	4º dia: dois exercícios em bicicleta 6 min. 5º e 6º dias: Exercício em bicicleta (6 min.) + teste até exaustão, separados por 25min de recuperação.	Teste até à exaustão Lactato Concentração de NO ₂ ⁻	↑ 5º e 6º dias (N: 675 ± 203s; P: 583 ± 145s) → ↑ 4º e 6º dias
Bailey et al., (2010)	7 homens Ativos recreacionalmente (19 e 38 anos)	6 dia, 500 mL/dia de suco de beterraba (5.1 mmol/dia de NO ₃ ⁻) Placebo (Cloreto de sódio – NaCl, 0,1 mmol /kg) 2,5h antes do exercício	4º dia: dois episódios de bicicleta 6 min (moderada intensidade). 5º e 6º dias: Exercício em bicicleta (6 min.) + teste até exaustão, separados por 25min de recuperação	Teste até à exaustão Fosfocreatina muscular Taxa total de ATP Concentração de NO ₂ ⁻	↑ (B: 734 ± 109s; P: 586 ± 80s) Atenuou a ↓ exerc. mod. intens. (N: 5,2 ± 0,8; P: 8,1 ± 1mM) ↓ dias 4-6 ↑ (B: 547 ± 55; P: 231 ± 76 Nm) dias 4-6

LEGENDA: VO2máx: volume de oxigênio máximo; SpO2: Saturação de oxigênio; seg: segundos; min: minutos; NaCl: Cloreto de sódio, N: nitrato, P: placebo, FC: frequência cardíaca; EB: enxaguante bucal; CK: creatina quinase; B: ingestão do suco de beterraba; P: placebo; ↑: aumentou significativamente; ↓: diminuiu significativamente, →: sem efeito significativo.

Tabela 1. Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico (continuação).

Autores	Amostra	Protocolo de	Protocolo de Exercício	Variáveis	Resultados
Bailey et al., (2015)	Sete homens Ativos recreacionalmente (21 ± 2 anos, $1,82 \pm 0,08$ m, 86 ± 10 kg)	9 dias, 70 mL ($6,2$ mmol de NO_3^- Placebo (Cloreto de sódio – NaCl, $0,1$ mmol /kg) 2,5 h antes dos exercícios	4 min em cicloergométrico a 20 W, seguido de um teste até à exaustão ($80\% \text{VO}_2\text{max}$) nos dias 4, 5, 8 e 9. Cadência do pedal de 35 rpm nos dias 4 e 5, e de 115 rpm nos dias 8 e 9.	Teste até à exaustão Concentração de NO_2^-	$\uparrow$ com 115 rpm (N: $362s \pm 137$; P: $297s \pm 79$) $\uparrow$ 35 rpm ou 115 rpm
Bescós et al., (2011)	11 ciclistas ($34,3 \pm 4,8$ anos, VO_2 pico: $65,1 \pm 6,2$ mL·kg ⁻¹ ·min ⁻¹ , 73.3 ± 5.6 kg ⁻¹)	Nitrato (10 mg·kg ⁻¹ NaNO ₃) Placebo (NaCl dissolvido em 250 mL de água) 3h antes do exercício.	Exercício submáximo em cicloergômetro com quatro cargas por 6 min cada ($2,0$, $2,5$, $3,0$ e $3,5$ W · kg ⁻¹), intercalados com 3 min de recuperação passiva. Teste até à exaustão pós 5 min de recuperação	Teste até à exaustão Concentração de NO_2^-	$\uparrow$ (B: $416 \pm 106.1s$; P: $409 \pm 89.5s$) $\uparrow$ (B: $2,313 \pm 157$ nM; P: 1.998 ± 206 nM)
Bond et al., (2012)	14 homens Remadores juniores ($16,7 \pm 0,5$ anos, $82,8 \pm 6,6$ kg, $1,88 \pm 0,04$ m)	6 dias, 500 mL de suco de beterraba, 250 mL pela manhã e 250 mL a tarde. ($5,5$ mmol/dia de NO_3^-) Placebo (suco de groselha preta, concentração desprezível de NO_3^-).	No 6º dia realizaram 6 x 500-m em ergômetro de remo, em intensidade máxima, com 90s de recuperação entre as repetições.	Tempo do Contra-relógio Lactato SpO ₂ Concentração de NO_2^-	$\downarrow$ em todas as repetições (N: $89.4 \pm 3.2s$; P: $90.19 \pm 2.9s$) $\rightarrow$ $\rightarrow$ Não relatado

LEGENDA: $\text{VO}_2\text{máx}$: volume de oxigênio máximo; SpO₂: Saturação de oxigênio; seg: segundos; min: minutos; NaCl: Cloreto de sódio, N: nitrato, P: placebo, FC: frequência cardíaca; EB: enxaguante bucal; CK: creatina quinase; B: ingestão do suco de beterraba; P: placebo; $\uparrow$: aumentou significativamente; $\downarrow$: diminuiu significativamente, $\rightarrow$: sem efeito significativo.

Tabela 1. Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico (continuação).

Autores	Amostra	Protocolo de	Protocolo de Exercício	Variáveis	Resultados
Betteridge et al., (2016)	Oito homens ativos recreacionalmente (27 ± 1 ano, VO_2 pico: $46 \pm 3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $178 \pm 2 \text{ cm}$, $77 \pm 10 \text{ kg}$)	Uma dose de suco de beterraba ($\sim 8 \text{ mmol NO}_3^-$) ou beterraba + bochechos com antisséptico bucal (suco + AB) 2h e 30 min antes	Pedalar por 60 minutos a 65% do VO_2 máximo.	Glicemia Lactato CK Glicogénio muscular. Concentração de NO_2^-	$\rightarrow$ $\rightarrow$ $\rightarrow$ $\rightarrow$ $\uparrow(\sim 130\%)$ suco, $\downarrow$ suco+AB
Boorsma et al., (2014)	Oito homens corredores de elite (1500 m)	Agudo + Crónico 8 dias Dias 1 e 8: 210 mL de BR ($19,5 \text{ mmol NO}_3^-$ antes do contra-relógio). Dias 2 – 7: 140 mL de BR ($13,0 \text{ mmol NO}_3^-$).	Dias 1 e 8 realizaram: contra-relógio 1500m Ensaio separados por, pelo menos, 7 dias.	VO_2 Teste de Contra-relógio Concentração de NO_2^-	$\rightarrow$ $\rightarrow$ (melhorou em 2 indivíduos) no 8º dia $\uparrow$
Breese et al., (2013)	Nove indivíduos ativos recreacionalmente	6 dias, 140mL / dia de suco de beterraba (8 mmol NO_3^-) Dias 1-3: 70 mL (2x) manhã e tarde. Dias 4-6: consumo ao longo de 10 minutos 2 h antes	Dias 4, 5 e 6: VO_2 e cinética muscular [HHb] Dias 4 e 5: 3-min pedalando em 15W, seguidos de 4 min de ciclismo (intensidade moderada), e 6 min do ciclismo (alta intensidade). Dia 6: exercício até exaustão.	Lactato Teste até à exaustão	$\rightarrow$ $\uparrow$ tempo no 6º dia

LEGENDA: VO_2 máx: volume de oxigênio máximo; SpO_2 : Saturação de oxigênio; seg: segundos; min: minutos; NaCl: Cloreto de sódio, N: nitrato, P: placebo, FC: frequência cardíaca; EB: enxaguante bucal; CK: creatina quinase; B: ingestão do suco de beterraba; P: placebo; $\uparrow$: aumentou significativamente; $\downarrow$: diminuiu significativamente, $\rightarrow$: sem efeito significativo.

Tabela 1. Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico (continuação).

Autores	Amostra	Protocolo de	Protocolo de Exercício	Variáveis	Resultados
Cermak et al., (2012 a)	20 ciclistas treinados do sexo masculino	140 mL de suco de beterraba (8,7 mmol / NO ₃ ⁻); 2,5 horas antes	Realizaram um teste de contra-relógio (~ 1-hr)	Teste de contra-relógio Lactato	→ →
Cermak et al., (2012 b)	12 ciclistas bem treinados do sexo masculino	6 semanas, 140 mL/dia de suco de beterraba (~ 8 mmol/ NO ₃ ⁻)	60 min de ciclismo submáxima (2 x 30 min, em 45% e 65% de W _{máx.}), seguida por um contra-relógio de 10 km.	Teste de contra-relógio Lactato, glicose e insulina	↑ tempo →
Clifford et al., (2016a)	20 homens: jogadores de futebol (n = 10), rugby (n = 5), basquete (n = 2) hóquei (n = 2) ou handebol (n = 1) 10 por grupo: Suco (23 ± 3 anos, 1.83 ± 0.90m, 76.8 ± 9.5 Kg); PLA (21 ± 2 anos, 1.77 ± 0.51 m, 73.4 ± 12.4 kg)	250 mL (2x) de suco de beterraba por 3 dias. Antes, 24 e 48 h após 1ª corrida e 30 min após 2ª corrida Placebo (abóbora, proteína em pó e Maltodextrina)	Exercício de corrida até a exaustão (20x30 m)	Teste até exaustão Contrações voluntárias isométricas máximas Limiar de dor CK LOOH	→ Recup.72 após a 1ª corrida (7,6%) ↑ 24 h após a 2ª corrida (10,4%) → →
Clifford et al., (2016b)	30 homens ativos recreacionalmente	Uma dose de suco de beterraba (250 mL), ou Uma dose de 125 mL, ou Placebo (bebida isocalórica) Imediatamente, 24h e 48 h após os 100 saltos.	Completaram 100 saltos	Contrações máximas isométricas voluntárias Contra-movimento dos saltos Limiar de dor CK; IL-6 ;IL-8; (TNFα)	Recup. com 250mL (48h e 72h após). → ↑com as duas dose (24-48-72h após) →

LEGENDA: VO₂max: volume de oxigênio máximo; SpO₂: Saturação de oxigênio; seg: segundos; min: minutos; NaCl: Cloreto de sódio, N: nitrato, P: placebo, FC: frequência cardíaca; EB: enxaguante bucal; CK: creatina quinase; LOOH: hidroperóxidos lipídicos; TNFα: Fator de Necrose Tumoral B; ingestão do suco de beterraba; P: placebo; ↑: aumentou significativamente; ↓: diminuiu significativamente, →: sem efeito significativo.

Tabela 1. Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico (continuação).

Autores	Amostra	Protocolo de	Protocolo de Exercício	Variáveis	Resultados
Hoon et al., (2014a)	10 homens altamente treinados	Uma dose de 70 mL (4,2 mmol de NO ₃ ⁻) ou 140 mL (8,4 mmol de NO ₃ ⁻) placebo (4,2 mmol de NO ₃). 2 horas antes	Realizaram um contra-relógio de 2000 m.	Teste de contra-relógio Concentração de NO ₂ ⁻	↓ (B: 381.9 ± 9s; P: 383.5 ± 9s) com 140 mL ↑ com 8,4 (140 mL)
Hoon et al., (2014b)	28 ciclistas treinados (20,3 ± 1,4 anos, 72,3 ± 6,4 kg)	70 mL (4,1 mmol de NO ₃ ⁻) ou placebo (0,03 mmol) Uma dose 150 min e 75 min. antes de E1 e outra dose 75 min. antes de E2	Dois exercícios (E1 e E2) de quatro minutos em ciclo-ergômetro separados por 75 minutos, sob a instrução de alcançar a maior potência média possível.	Desempenho Concentração de NO ₂ ⁻	→ ↑ (Maior quando consumido 75 min antes de E1)
Kelly et al., (2014)	12 homens fisicamente ativos (22 ± 4 ano, 1,80 ± 0,06 m; 78 ± 6 kg; VO ₂ pico 58,3 ± 6,3 mL/kg ¹ /min ⁻¹)	3 dias, 140 mL do suco (~ 8,4 mmol de NO ₃ ⁻ /dia). 1) Hipóxia-Suco(H-BT); 2) Hipóxia-PL(H-PL); 3)Normóxia-Suco(N-BT); 4) Normóxia-PL (N-PL).	2 exercícios de intensidade moderada (80% limiar anaeróbio) em ciclo ergométrico por 5 minutos + teste até a exaustão .	Tolerância no Teste até exaustão Concentração de NO ₂ ⁻	↑ H-BT ↑ H-BT/ N-BT
Lansley et al., (2011a)	Nove homens fisicamente ativos	6 dias de suplementação, 500mL/dia 6,2 mmol de NO ₃ ⁻ Placebo (concentração desprezível de NO ₃ ⁻); 2,5 h antes	Corrida em esteira (moderada intensidade) nos 4º e 5º dias + Um teste até exaustão Dia 6: teste de extensão de joelho	Teste até à exaustão Lactato Capacidade muscular oxidativa-Qmax	↑ → →

LEGENDA: VO2máx: volume de oxigênio máximo; SpO2: Saturação de oxigênio; seg: segundos; min: minutos; NaCl: Cloreto de sódio, N: nitrato, P: placebo, FC: frequência cardíaca; EB: enxaguante bucal; CK: creatina quinase; B: ingestão do suco de beterraba; P: placebo; ↑: aumentou significativamente; ↓: diminuiu significativamente, →: sem efeito significativo.

Tabela 1. Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico (continuação).

Autores	Amostra	Protocolo de	Protocolo de Exercício	Variáveis	Resultados
Lansley et al., (2011b)	Nove homens fisicamente ativos	500 mL/dia, contendo 6,2 mmol de NO ₃ ⁻ ou Placebo (concentração desprezível de NO ₃ ⁻) 2,5 h antes	Ciclistas realizaram contra-relógio de 4 km e outro de 16,1 km.	Contra-relógio de 4 km Contra-relógio de 16,1 km	↓ 2,8% (P< 0,05) ↓ 2,7% (P< 0,01)
Larsen et al., (2007)	Nove atletas bem treinados	3 dias de suplementação antes dos exercícios 0,1 mmol/kg por dia de NO ₃ ⁻ ou cloreto de sódio (placebo) 48 h antes do exercício	Exercício em bicicleta (mod. Inten.) + contra-relógio	PA sistólica e diastólica Teste de contra-relógio Lactato	↓ 8 e 6 mm Hg respec. → →
Larsen et al., (2010)	Nove homens saudáveis (30 ± 2,3 anos, VO ₂ max 3,72 ± 0,33 L / min)	Durante 2 dias antes do exercício Nitrato de sódio (0,1 mmol/kg/dia) ou placebo (NaCl)	Teste até a exaustão em ciclo ergômetro	Teste até a exaustão	→
Murphy et al., (2012)	11 indivíduos ambos os sexos atletas recreacionais.	Beterraba cozida (200 g com ≥500 mg de NO ₃ ⁻) 75 minutos antes;	Dois ensaios de 5 km em esteira	Velocidade da corrida durante os 5-km Percepção subjetiva de esforço	Mais rápido ↓

LEGENDA: VO₂máx: volume de oxigênio máximo; SpO₂: Saturação de oxigênio; PA: Pressão arterial; PAM: Pressão arterial média; seg: segundos; min: minutos; NaCl: Cloreto de sódio, N: nitrato, P: placebo, FC: frequência cardíaca; EB: enxaguante bucal; CK: creatina quinase; B: ingestão do suco de beterraba; P: placebo; ↑: aumentou significativamente; ↓: diminuiu significativamente, →: sem efeito significativo.

Tabela 1. Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico (continuação).

Autores	Amostra	Protocolo de	Protocolo de Exercício	Variáveis	Resultados
Nyakayiru et al., (2016)	17 ciclistas homens (25 ± 4 anos, $\dot{V}O_2$ pico: 65 ± 4 mL·kg ⁻¹ ·min ⁻¹ , Wmax 411 ± 35 W)	3 condições diferentes: 5 dias de placebo e 1 dia de nitrato de sódio-1097 mg (1 D); 6 dias de suco de beterraba 800 mg, 2x70mL (~12,9 mmol/ NO ₃ ⁻ /dia) (6 D); ou, 6 dias com placebo (PLA) 3 h antes do exercício	30 minutos de exercício a 45% de Wmax e 30 minutos a 65% de Wmax em cicloergômetro, seguidos de um teste de 10 km	Teste até a exaustão Concentração de NO ₂ ⁻ no plasma	→ ↑ 6 D e 1 D (B: 501 ± 205, 553 ± 278 vs P: 239 ± 74 nM)
Peacock et al., (2012)	10 esquiadores juniores de elite (18 anos, 182 ± 8 cm, 74 ± 8 kg, $\dot{V}O_2$ max: 69,6 ± 5,1 mL/kg/min)	Uma cápsula de nitrato de potássio (614 mg NO ₃ ⁻ , 9,9 mmol), ou uma cápsula com 1 g de maltodextrina e 500 mL de água 2,5 h antes do exercício	Dois testes submáximos de 5 minutos, a 10 km (55% do $\dot{V}O_{2max}$) e 14 km (75% do $\dot{V}O_{2max}$). Recuperação de 15 min., seguidos de um contra relógio de 5 km em pista de 250 m.	Tempo do contra relógio	→
Peeling et al., (2014)	Seis atletas de nível nacional ($\dot{V}O_2$ pico 57,15 ± 2,8) Estudo A Cinco atletas mulheres de nível internacional ($\dot{V}O_2$ pico 47,8 ± 3,7) Estudo B	70mL do suco de beterraba (~4.8 mmol de NO ₃ ⁻) ou placebo, 2,5 h antes (Estudo A) 140 mL (~9.6 mmol de NO ₃) ou placebo, 2 h antes (EstudoB)	Estudo A: Exercícios de desempenho máximo de 4 min em ergômetro de caiaque. Estudo B: contra-relógio de caiaque em água de 500 m.	Tempo do Contra-relógio Lactato	↓ com 140 mL (estudo B) (B: 114.6 ± 1.5 s; P: 116.7 ± 2.2 s) →

LEGENDA: $\dot{V}O_{2max}$: volume de oxigênio máximo; SpO₂: Saturação de oxigênio; PA: Pressão arterial; PAM: Pressão arterial média; seg: segundos; min: minutos; NaCl: Cloreto de sódio, N: nitrato, P: placebo, FC: frequência cardíaca; EB: enxaguante bucal; CK: creatina quinase; B: ingestão do suco de beterraba; P: placebo; ↑: aumentou significativamente; ↓: diminuiu significativamente, →: sem efeito significativo.

Tabela 1. Estudos que investigaram o impacto da ingestão do suco de beterraba sobre o desempenho físico (continuação).

Autores	Amostra	Protocolo de	Protocolo de Exercício	Variáveis	Resultados
Shannon et al., (2017)	Oito corredores treinados ou triatletas do sexo masculino (28,3 ± 5,8 anos, 74,7 ± 10,1 kg, 179,1 ± 2,4 cm, $\dot{V}O_2$ max: 62,3 ± 8,1 mL kg ⁻¹ min ⁻¹)	Uma dose de 140 mL de suco de beterraba (~ 12,5 mmol de NO ₃ ⁻) 3 h antes do exercício	Dois testes de desempenho em esteira ergométrica, 1.500 m ou 10.000 m separados por 5 dias	Lactato Tempo contra- relógio 1.500 m Tempo contra-relógio 10.000 m	↓ (B 6,6 ± 1,2 vs P 6,1 ± 1,5 mM, P <0,05). Mais rápido (B 319,6 ± 36,2 vs placebo 325,7 ± 38,8 s, P <0,05). →
Wilkerson et al., (2012)	Oito homens ciclistas bem treinados ($\dot{V}O_2$ max 63 ± 8)	Uma dose de 500mL/dia do suco de beterraba, ~6.2 mmol de NO ₃ ⁻ Placebo (quantidades insignificantes de NO ₃ ⁻ [0,03 mmol]). 2,5 h antes do exercício	Um contra-relógio de 50 milhas em ciclo ergométrico	Tempo do Contra relógio	↓ (B: 136,7 ± 5,6 min; P: 137,9 ± 6,4 min)
Wylie et al., (2013)	10 homens ativos recreacionalmente	70, 140, ou 280 mL do suco de beterraba (Contendo 4,2, 8,4 e 16,8 mmol NO ₃ ⁻ , respectivamente 2,5 h antes do exercício	Dois exercícios de 5 minutos em intensidade moderada e uma sessão de exercício até a exaustão. Todas as séries de exercícios foram separadas por 5 minutos de descanso passivo.	Nitrito Teste até à exaustão	↑ ↑ tempo (com 140 mL-8,4 mmol NO ₃ ⁻)

LEGENDA: $\dot{V}O_2$ max: volume de oxigênio máximo; SpO₂: Saturação de oxigênio; PA: Pressão arterial; PAM: Pressão arterial média; seg: segundos; min: minutos; NaCl: Cloreto de sódio, N: nitrato, P: placebo, FC: frequência cardíaca; EB: enxaguante bucal; CK: creatina quinase; B: ingestão do suco de beterraba; P: placebo; ↑: aumentou significativamente; ↓: diminuiu significativamente, →: sem efeito significativo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 TIPO DE PESQUISA

Este estudo é caracterizado como experimental clínico, randomizado e controlado, com delineamento *cross over* e duplo cego. Segundo Cervo e Bervian (2004) consiste na administração de um ou mais tratamentos teste e um tratamento controle, distribuídos de forma aleatória aos grupos, com a finalidade de avaliá-lo. As variáveis são manipuladas diretamente e relacionadas com o objeto de estudo. Através da criação de situações de controle, procura-se evitar a interferência de variáveis intervenientes, estabelecendo uma relação de causa-efeito com o objetivo de testar uma hipótese experimental. Além disso, segundo Senn (2002) define-se *cross over* como um delineamento em que aos indivíduos são dadas sequências de tratamentos com o objetivo de estudar as diferenças entre os diferentes tratamentos, ou seja, todos os indivíduos passam pelo grupo tratamento e controle.

3.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA

O tamanho amostral foi calculado segundo Eng (2003) utilizando o software Gpower 3.1 (Franz Faul, Universitat Kiel, Germany). Considerou-se a investigação prévia de Bailey et al., (2010) em atletas de nível recreacional obtiveram maior tempo no teste até a exaustão (beterraba: 734 ± 109 vs placebo: 586 ± 80 min.) após consumo do suco de beterraba, o que resultou em um *effect size* de 1,54. Adotando-se erro α de 0,05 e poder estatístico (erro β) de 0,95, encontrou-se um tamanho amostral mínimo de 10 sujeitos. Além disso, um razoável volume de estudos prévios foi realizado com 10 voluntários ou menos (BAILEY et al., 2009; BAILEY et al., 2010; BAILEY et al., 2015; BETTERIDGE et al., 2016; BREESE et al., 2013; LANSLEY et al., 2011a; LANSLEY et al., 2011b; LARSEN et al., 2007; LARSEN et al., 2010).

Com base nestes pressupostos, o presente estudo foi feito com 10 praticantes de corrida de rua em nível recreacional, do sexo masculino, com idade $42,1 \pm 6,6$ anos. Os corredores foram recrutados dos ambientes em que realizam seus treinos (pista de atletismo e

orla litorânea da cidade de João Pessoa). Para participarem do estudo, os voluntários deveriam ser praticantes de corrida há pelo menos um ano e estar realizando treinamentos ininterruptamente há pelo menos três meses, com pelo menos três sessões semanais de corrida, pelo menos dois dias de outras atividades físicas complementares e treinar com o objetivo de participar de competições de corrida de longa duração. Foram excluídos do estudo os voluntários que apresentassem alguma doença crônica degenerativa, fossem tabagistas ou fizessem uso contínuo de qualquer medicamento, não participassem de todos os procedimentos experimentais ou apresentassem desconforto gastrointestinal ao suco de beterraba ou bebida controle.

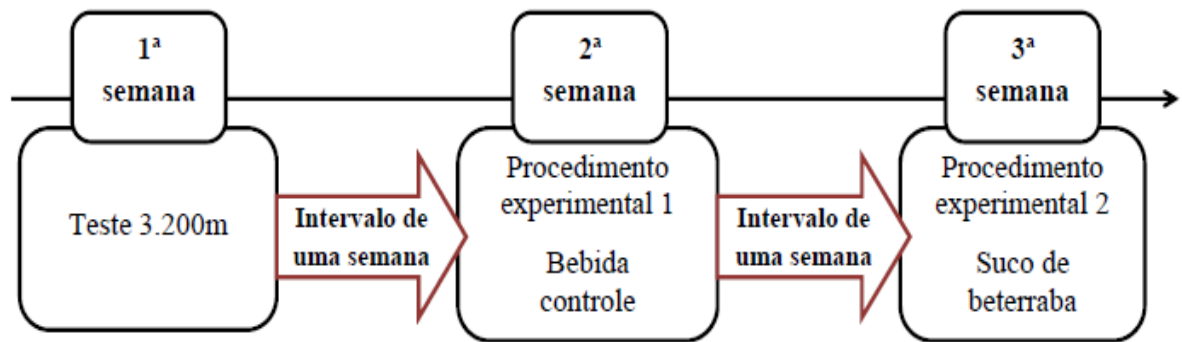
O projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa com seres humanos do Centro de Ciências da Saúde (CCS), sendo aprovado sob protocolo nº 0640/16 (ANEXO A). Todos os sujeitos que participaram da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido conforme resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (APÊNDICE A).

3.3 DESENHO DO ESTUDO

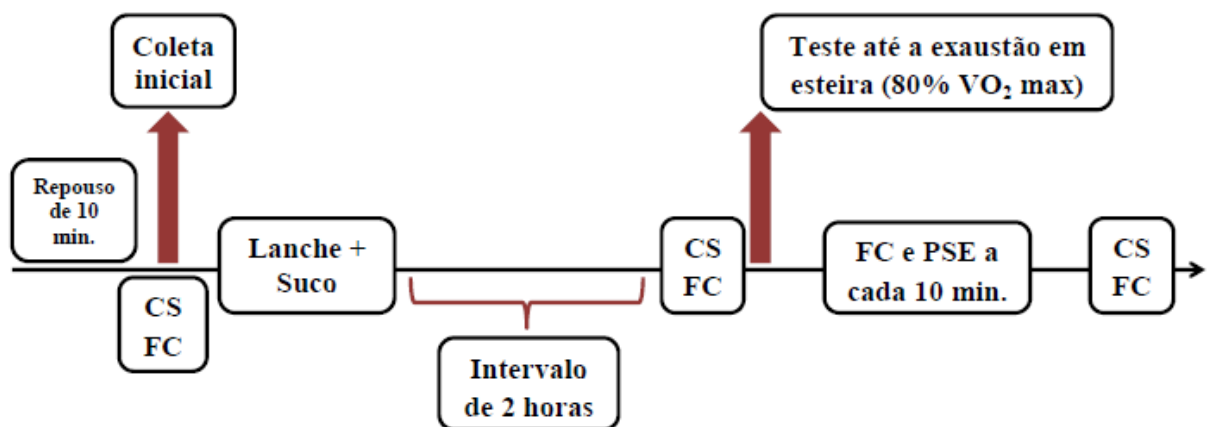
Conforme pode ser visto na figura 1 (painel A), inicialmente foi realizado um teste para determinação da capacidade aeróbia (3.200 metros). Nas duas semanas posteriores, os participantes realizaram os procedimentos experimentais (suco de beterraba ou bebida controle) no formato apresentado na figura 1 (painel B). Os sujeitos foram randomizados para iniciar os procedimentos com uma dose de 140 mL de suco de beterraba ou bebida controle (www.randomizer.org) duas horas antes de um teste até a exaustão em esteira ergométrica a 80% VO_2 max. Frequência cardíaca e percepção subjetiva de esforço foram tomadas a cada 10 minutos durante o teste. Coletas sanguíneas foram realizadas antes da ingestão do suco de beterraba ou bebida controle, duas horas após a ingestão, e imediatamente após o teste até a exaustão para posterior análise de marcadores de dano muscular [creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH)], de estresse oxidativo [malondialdeído (MDA), capacidade antioxidante total (CAT) e nitrito].

Figura 2: Desenho do estudo (Painel A e Painel B).

Painel A: Sequência dos Procedimentos



Painel B: Procedimento experimental



Legenda: CS: Coleta Sanguínea; FC: Frequência Cardíaca; PSE: Percepção Subjetiva de Esforço; VO₂máx: Volume de Oxigênio Máximo.

3.4 PREPARAÇÃO PARA OS PROCEDIMENTOS COM EXERCÍCIO

Os voluntários do estudo foram orientados a suspender os exercícios físicos 48 horas antes do teste determinante da capacidade aeróbia (teste 3.200 metros), bem como antes das sessões experimentais. Foram orientados a não ingerir suplementos nutricionais, alimentos fontes de vitaminas antioxidantes e ricos em NO_3^- , durante o estudo a fim de assegurar a exclusão de quaisquer efeitos associados à alimentação sobre o procedimento experimental. Adicionalmente, abster-se do consumo de cafeína e bebidas alcoólicas 6 e 24 h, respectivamente, antes de cada ensaio, e do uso de antissépticos bucais durante todo o experimento, pois estes são conhecidos por erradicar as bactérias orais que são necessárias para a conversão de NO_3^- em NO_2^- (GOVONI et al., 2008). O consumo alimentar foi avaliado antes do início e durante o estudo através do recordatório alimentar de 24 horas (GIBSON, 1990). A ingestão alimentar foi monitorada no dia anterior e no dia da realização das sessões experimentais com suco de beterraba e controle. Os indivíduos foram orientados a manter seus padrões alimentares habituais.

3.5 DETERMINANTE DA CAPACIDADE AERÓBIA (TESTE 3.200 METROS)

Cada participante realizou um teste de corrida de 3200 m em uma pista de atletismo (400 m) padrão para a IAAF (Associação Internacional de Federações de Atletismo). Os participantes foram instruídos a completar a corrida de 3200 m o mais rápido possível, começando a correr no sinal dado por um pesquisador. O tempo necessário para executar foi medido com um cronômetro e registrado como resultado do teste. O VO_2 max foi calculado utilizando a equação abaixo (WELTMAN, 1987): $\text{VO}_{2\text{max}} (\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}) = 118,4 - 4,774 \times (T)$; onde T = tempo em minutos e fração decimal de 3200 m.

3.6 AVALIAÇÃO PSICOMÉTRICA

Para melhor caracterizar os voluntários responderam à versão do questionário *Profile of Mood States* (POMS) adaptada para o desporto por Raglin e Morgan (1989) e traduzida por Viana, Almeida e Santos (2001) (ANEXO C). Esta é composta por 36 itens, tendo cada uma das seis escalas - Tensão, Depressão, Hostilidade, Fadiga, Confusão e Vigor. O resultado é dado como Perturbação total de humor (PTH), sendo computado através da soma de cinco primeiras escalas e subtração do resultado da escala de Vigor. A este resultado foi somado o valor fixo de 100 para evitar valores negativos. Este instrumento foi adaptado ainda para a determinação de uma Escala de Desajuste ao Treino (*Training Distress Scale* – TDS) por Raglin e Morgan (1989). Para isto, são considerados seis itens adicionais (sem valor, inútil, culpado, miserável, imprestável e apático). Esta escala permite ajudar no diagnóstico dos efeitos indesejados de *overreaching* ou *overtraining*.

3.7 AVALIAÇÃO DO SONO

Ainda para fins de caracterização, os sujeitos foram avaliados a partir da versão brasileira da Escala de Sonolência Diurna de Epworth, bem como, pelas horas de sono semanais e a percepção de descanso para as horas dormidas (ANEXO D).

A *Epworth Sleepiness Scale* (ESS) foi idealizada por Johns (1991) com base em observações relacionadas à natureza e à ocorrência da sonolência diurna. Posteriormente, foi adaptada e traduzida por Bertolazi et al. (2009) para Escala de Sonolência de Epworth (ESE-BR). Trata-se de um questionário autoaplicável que avaliou a probabilidade de adormecer em seis situações envolvendo atividades diárias, algumas delas conhecidas como sendo altamente soporíficas (JOHNS, 2000). O escore global varia de 0 a 18, sendo considerado o diagnóstico de sonolência diurna excessiva para os escores acima de 10 (JOHNS, 2000). A escala de sonolência tem sido amplamente usada por ser simples, de fácil compreensão e de rápido preenchimento. É um instrumento válido e confiável para a avaliação da sonolência diurna (BERTOLAZI et al., 2009).

De modo complementar a avaliação da qualidade do sono quantificou-se as horas de sono contínuas ao longo da noite e durante o dia, tanto para os dias de semana (DDS) como para os finais de semana (FDS). Além disso, foi avaliada a percepção de descanso para as horas dormidas dentro de uma escala de “sempre” a “nunca” suficientes para descansar.

3.8 TESTE ATÉ EXAUSTÃO

O teste até a exaustão foi realizado a 80% do VO_2 max, em esteira ergométrica (Moviment, São Paulo, Brasil) em ambiente climatizado, com temperatura entre 22 e 25° C e umidade do ar em torno de 65%, controlados medidos por termohigrógrafo (TFA HT-7429, São Paulo, Brasil). Para controle da intensidade foi usado um cardiófrequencímetro da marca Polar, modelo RS800CX (Polar Electro® Oy, Kempele, Finland), para registo da frequência cardíaca a cada 10 minutos. Foi solicitado aos atletas que nas 48 horas antecedentes ao teste não realizassem qualquer exercício físico.

A escala de percepção de esforço de Borg (ANEXO B) (BORG, 1982) foi utilizada para se obter a sensação de esforço dos atletas durante esta corrida. Esta é uma escala arbitrária de 0 a 10, que em escala percentual equivale de 60 a 100% do esforço máximo. Os escores pares da PSE apresentam adjetivos que vão de extremamente leve à extremamente pesado, para auxiliar o sujeito na determinação do esforço desenvolvido. Os atletas foram orientados a manter a velocidade pré determinada pelo maior tempo possível. O critério de interrupção do teste foi à incapacidade de manter-se na velocidade determinada, mesmo diante de estímulo verbal dos pesquisadores. O resultado foi dado em minutos e segundos de corrida. Frequência cardíaca e percepção subjetiva de esforço foram tomadas a cada 10 minutos durante o esforço.

3.9 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

3.9.1 COMPOSIÇÃO CORPORAL

Antes do início do protocolo de suplementação, foram coletadas medidas antropométricas para avaliar o estado nutricional dos participantes, através do Índice de Massa Corporal (IMC) (QUÉTELET, 1870). Todas as medidas foram padronizadas conforme os parâmetros de avaliação física propostos por Petroski (2003).

Mensurou-se o peso corporal utilizando uma balança digital (Plenna Lumina, modelo MEA-02550, Brasil) com precisão de 0,1 kg e capacidade de 150 kg, a estatura por meio de

um estadiômetro portátil (Sanny, Standard, São Paulo, Brasil) com escala de medida em 0,1 cm estando o indivíduo em posição anatômica adequada (plano de Frankfurt).

O percentual de gordura foi estimado pelo método das dobras cutâneas utilizando-se um adipômetro científico (Sanny, São Paulo, Brasil) com sensibilidade de 0,1 mm. A obtenção das dobras cutâneas seguiram os pontos antropométricos, e foram obtidas de forma padrão, no hemicorpo direito do atleta por um único avaliador realizando-se medidas em triplicata para cada dobra cutânea, sendo considerada a média entre os valores obtidos. Foram tomadas medidas de sete pontos antropométricos: subescapular, tricipital, peitoral, axilar média, suprailíaca, abdominal e femural. A estimativa da densidade e percentual de gordura foi realizada a partir da equação de Jackson, Pollock e Ward (1980) para mulheres, e Jackson e Pollock (1978) para homens.

3.9.2 CONSUMO ALIMENTAR

Nos mesmos momentos das avaliações físicas foram aplicados recordatórios alimentares de 24h (APÊNDICE B), que consiste em definir e quantificar todos os alimentos e bebidas ingeridas no período anterior ao da entrevista, que pode ser de 24 horas precedentes ou, mais comumente, o dia anterior (GIBSON, 1990). Foram aplicados três vezes com cada atleta. Como referência para a adequação do consumo dietético foram considerados os limites propostos pela *International Society of Sports Nutrition* (KREIDER et al., 2010). Esse instrumento foi aplicado e avaliado por nutricionista, utilizando-se o software Avanutri Revolution versão 4.0 (Avanutri Informática Ltda, Rio de Janeiro, Brasil). Juntamente aos recordatórios de 24 horas, foram registrados desconfortos gastrointestinais tais como, dor abdominal, inchaço, constipação, diarreia, azia, flatulência e náuseas (APÊNDICE D).

3.10 SUPLEMENTAÇÃO

Os indivíduos chegaram ao laboratório em jejum de pelo menos 8 horas e realizaram desjejum padronizado (sanduíche com queijo) contendo 55,9 g de carboidratos, 14,3 proteínas e 9,4 g de gordura. O sanduíche foi acompanhado de 140 mL de suco de beterraba ou bebida

controle, ingerido duas horas antes do teste até a exaustão. Os sujeitos foram randomizados para iniciarem os procedimentos com bebida experimental ou controle (www.randomizer.org).

A bebida experimental foi um suco comercial de beterraba (Beet It Sport, James White Drinks, Ipswich, Reino Unido), apresentando 98% de suco de beterraba concentrado e 2% suco de limão. Foram utilizado dois frascos de 70 mL do suco, para um consumo total de 140 mL conforme dose adotada por Wylie et al. (2013). As informações nutricionais do suco estão apresentadas na tabela 2. A capacidade antioxidante total foi determinada utilizando o ensaio de FRAP, conforme Benzie e Strain (1996). O teor total de polifenol foi determinado pelo método de Folin Ciocalteu (Singleton, Orthofer, Lamuela-Raventos, 1999).

Tabela 2: Informações nutricionais, compostos fenólicos, e atividade antioxidante do suco de Beterraba.

Quantidade por porção (140 mL)	
Fruta in natura (g)	500
Valor energético (kcal)	144
Carboidratos (g)	30
Açúcares (g)	28
Proteínas (g)	5,4
Gorduras totais (g)	0,1
Gorduras saturadas (g)	<0,1
Sódio (mg)	0,4
NO ₃ ⁻ (mg)	800
Quantidade por porção (70 mL)	
Compostos fenólicos	
Polifenois totais (mg EAG/L)	977,2
Atividade Antioxidante	
FRAP (μMol/L)	997,1

Legenda: FRAP = Poder antioxidante redutor de ferro. EAG = Equivalentes de ácido gálico. Dados de Wootton-Beard e Ryan (2011).

Nos estudos prévios, a utilização do procedimento controle ou placebo são bem distintos, sendo utilizados cloreto de sódio (NaCl) dissolvido em água (BESCÓS et al., 2011; BAILEY et al., 2009; BAILEY et al., 2010), maltodextrina (PEACOCK et al., 2012), suco de

groselha preta (BOND et al., 2012), bebida com abóbora, proteína e maltodextrina (CLIFFORD et al., 2016b). No presente estudo, foi adotado uma bebida de cor similar ao suco de beterraba, como controle, a qual foi um suco com sabor artificial de uva sem antioxidantes e sem nitrato, desenvolvido para fins específicos de pesquisa (Aliança Premier, Vinícola Nova Aliança, Flores da Cunha-RS, Brasil). Os atletas consumiram 10 mL/ kg/ dia, sendo que cada 200mL da bebida apresentava valor energético de 140kcal e 33g de CHO.

3.11 COLETAS E ANÁLISES BIOQUÍMICAS

3.11.1 COLETA SANGUÍNEA

Dez mililitros de sangue foram coletados a partir da veia antecubital por enfermeira devidamente experiente, antes da ingestão do suco de beterraba ou bebida controle, imediatamente após 2 horas à suplementação, e após o teste até a exaustão. Para o caso de ocorrer edema no local da coleta sanguínea existia gelo disponível no laboratório. O sangue foi imediatamente colocado em tubos e centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos, sendo então refrigerado a -20 °C até o momento das análises.

3.11.2 CREATINOQUINASE

As concentrações plasmáticas de creatinoquinase foram quantificadas em modo cinético através do método UV-IFCC (INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE, 2002) por meio do kit comercial CK-NAC Liquiform (Labtest, Minas Gerais, Brasil) seguindo as instruções do fabricante. A absorbância foi obtida no analisador automático Labmax 240 premium (Labtest, Minas Gerais, Brasil), no comprimento de onda 340nm.

3.11.3 LACTATO DESIDROGENASE (LDH)

As concentrações plasmáticas da enzima Lactato Desidrogenase (LDH) foram quantificadas através do método Piruvato-Lactato em modo cinético, por meio do kit comercial LDH Liquiform (Labtest, Minas Gerais, Brasil) seguindo as instruções do fabricante. A absorbância foi obtida no analisador automático Labmax 240 premium (Labtest, Minas Gerais, Brasil), no comprimento de onda 340nm.

3.11.4 MALONDIALDEÍDO

A atividade oxidante foi quantificada por meio da peroxidação lipídica, através da reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS) com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos, conforme método descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979). Para isto, 250 µl de amostra foi incubada em banho maria a 37°C por 60 minutos. Em seguida, a amostra foi precipitada com ácido perclórico AA 35% e centrifugada a 14000 rpm por 20 minutos à 4°C. O sobrenadante foi transferido para novos microtubos, sendo adicionado 400µl de ácido tiobarbitúrico a 0,6% e incubado a 60° C por 60 minutos. Após o resfriamento, o material foi lido em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 532nm.

3.11.5 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL

A Capacidade Antioxidante Total foi baseada no método descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset, (1995) no qual uma alíquota de 1,25 mg de 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) foi diluída em 100 mL de etanol (álcool etílico absoluto 99,5%), mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foram adicionados 3,9 mL da solução de DPPH a 100 µL de plasma em tubos, que em seguida foram agitados em vórtex e deixados em repouso por 30 minutos. Posteriormente, foram centrifugados a 10.000 rpm à temperatura de 20°C por 15 minutos e o sobrenadante utilizado para a realização da leitura em espectrofotômetro (Biospectro SP-22, Curitiba, Brasil) a um comprimento de onda de 515 nm. Os resultados

foram expressos como percentual da atividade antioxidante (AOA): $AOA = 100 - \frac{[DPPH \cdot R]_t}{[DPPH \cdot R]_B} \times 100$ onde, $[DPPH \cdot R]_t$ e $[DPPH \cdot R]_B$ correspondem às concentrações de DPPH• remanescente após 30 minutos, avaliadas na amostra (t) e no branco (B) preparado com água destilada.

3.11.6 NITRITO PLASMÁTICO

As concentrações de nitrito plasmático foram determinadas pela reação de Griess que quantifica o nitrito na amostra através da reação de diazotização formando um cromóforo de cor rósea. O reagente foi preparado utilizando partes iguais de ácido fosfórico 5%, sulfanilamida 1% em ácido fosfórico a 5%, N-(1-Naphtyl)-ethylenediamine dihydrochloride (NEED) a 0,1% e água destilada. Seguir-se-á a detecção do nitrito/nitrato com adição de 500 µL do reagente de Griess a 500 µL do plasma. Após 10 minutos, a absorbância foi medida em um espectrofotômetro (Biospectro SP-22, Curitiba, Brasil) a um comprimento de onda de 532nm. As concentrações de nitrito foram calculadas por extrapolação para uma curva padrão de NaNO₂ e os dados expressos em micromoles (GREEN et al., 1981).

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média e desvio padrão da média. Após testar os dados para normalidade e homogeneidade por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Levine, foi utilizado o teste ANOVA one way ou two-way, conforme o caso, ou seus correspondentes não paramétricos, para verificar diferenças entre as concentrações de MDA, CAT, CK, LDH e nitrito nos diferentes protocolos. As análises foram realizadas por meio do software Instat 3.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA), adotando significância de $p < 0,05$.

REFERÊNCIAS

- ABBEY, E. L.; RANKIN, J. W. Effect of ingesting a honey-sweetened beverage on soccer performance and exercise-induced cytokine response. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 19, n. 6, p. 659-672, 2009.
- ALLGROVE J. et al. Regular dark chocolate consumption's reduction of oxidative stress and increase of free-fatty-acid mobilization in response to prolonged cycling. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 21 n. 2, p.113-123, 2011.
- APTEKMANN, N. P.; CESAR, T. B. Orange juice improved lipid profile and blood lactate of overweight middle-aged women subjected to aerobic training. **Maturitas**, v. 67, n.4, p. 343-347, 2010.
- ARNOLD, J. T. e t al. Beetroot Juice Does Not Enhance Altitude Running Performance in Well-Trained Athletes. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 40, n. 6, p. 590-595, 2015.
- BAILEY, S. J. et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 107, n. 4, p. 1144-1155, 2009.
- BAILEY, S. J. et al. Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 109, n. 1, 135–148, 2010.
- BAILEY, S. J. et al. Inorganic nitrate supplementation improves muscle oxygenation, O₂ uptake kinetics, and exercise tolerance at high but not low pedal rates. **Journal of Applied Physiology**, v.118: 1396–1405, 2015.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.
- BERTOLAZI, A.N., et al. Validação da escala de sonolência de Epworth em português para uso no Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.35, n.9, p.877-883, 2009.
- BESCÓS, R. et al. Acute Administration of Inorganic Nitrate Reduces VO₂peak in Endurance Athletes. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 10, p. 1979-1986, 2011.
- BETTERIDGE, S. et al. No effect of acute beetroot juice ingestion on oxygen consumption, glucose kinetics, or skeletal muscle metabolism during submaximal exercise in males. **Journal of Applied Physiology**, v. 120, n. 4, p. 391-398, 2016.

BOND, H.; MORTON, L.; BRAAKHUIS, A. J. Dietary Nitrate Supplementation Improves Rowing Performance in Well-Trained Rowers. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 22, n. 4, p. 251-256, 2012.

BOGDA, N. C. Nitric oxide and the immune response. **Nature Immunology**, v. 2, 907–916, 2001.

BORG, G. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.14, n.5, p. 377-381,1982.

BOORSMA, R. K.; WHITFIELD, J.; SPRIET, L. L. Beetroot juice supplementation does not improve performance of elite 1500-m runners. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 46, n. 12, p. 2326-2334, 2014.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BREESE, B. C.; MCNARRY, M. A.; MARWOOD, S. Beetroot juice supplementation speeds O₂ uptake kinetics and improves exercise tolerance during severe-intensity exercise initiated from an elevated metabolic rate. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 30, n. 12, p.1441-1450, 2013.

BRYAN, N. S.; LOSCALZO, J. Nitrite and Nitrate in Human Health and Disease, **Nutrition and Health**, 2011.

BRUCE, R. A.; BLACKMAN, J. R.; JONES, J. W. Exercise testing in adult normal subjects and cardiac patients. **Pediatrics**, v. 32, p. 742-755, 1963.

BRUCE, R. A. et al. Separation of Effects of Cardiovascular Disease and Age on Ventricular Function with Maximal Exercise. **American Journal of Cardiology**, v. 34, n. 7, p. 757–763, 1974.

CASSENS, R. Use of sodium nitrite in cured meats today. **Food Technology**, v. 49, p. 72–81, 1995.

CASTRO, M. A. C. Estudo comparativo da produção de radicais livres e catalase nos exercícios de intensidade e duração moderadas. Brasília, 2003, 68 p. **Dissertação**. Universidade Católica de Brasília.

CERMAK, N. M. et al. No improvement in endurance performance after a single dose of beetroot juice. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 22, n. 6, p. 470-478, 2012a.

CERMAK, N. M.; GIBALA, M. J.; VAN LOON, L. J. Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 22, n. 1, p. 64-71, 2012b.

CERVO, A.; BERVIAN, P. **Metodologia Científica**. 5.ed, São Paulo: Prentice Hall, 2004.

CHAN, T. Y. K. Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. **Toxicol Lett**, v. 22, n. 1, p. 107-108, 2010.

CHAPMAN, D.; NEWTON, M.; SACCO, P.; NOSAKA, K. Greater Muscle Damage Induced by Fast Versus Slow Velocity Eccentric Exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 27, p. 591– 598, 2006.

CHRISTENSEN, P. M.; NYBERG, M.; BANGSBO, J. Influence of nitrate supplementation on VO₂ kinetics and endurance of elite cyclists. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 23, n. 1 p. 21–31.

CLARKSON, P. M.; HUBAL, M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, v.81, p. 52–69, 2002.

CLEMENTS, W. T.; LEE, S. R.; BLOOMER, R. J. Nitrate ingestion: a review of the health and physical performance effects. **Nutrients**, v. 6, n. 11, p. 5224-5264, 2014.

CLIFFORD, T. et al. The effects of beetroot juice supplementation on indices of muscle damage following eccentric exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 2, p. 353-362, 2016a.

CLIFFORD, T. et al. Antioxidant-rich beetroot juice does not adversely affect acute neuromuscular adaptation following eccentric exercise. **Journal of Sports Sciences**, v, 7, p. 1-8, 2016b.

COOPER, C. E. et al. Exercise, free radicals and oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v.30, n.2, p.280-285, 2002.

COYLE, E. F. Physical activity as a metabolic stressor. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, 512–520, 2000.

CRUZAT, V.F., et al. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.13, n.5, 2007.

DAVISON, G. et al. The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. **European Journal of Nutrition**, v. 51, n. 1, p. 69-79, 2012.

DEMURA, S.; YAMADA, T.; TERASAWA, N. Effect of coffee ingestion on physiological responses and ratings of perceived exertion during submaximal endurance exercise.

Perceptual and Motor Skills, v. 105, n. 3, p. 1109-1116, 2007.

DETOPOULOU, P. et al. Dietary choline and betaine intakes in relation to concentrations of inflammatory markers in healthy adults: The ATTICA study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 424–430, 2008.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, v.82, n.1, p.47-95, 2002.

ENG, J. Sample size estimation: how many individuals should be studied? **Radiology**, v. 227, n.2, p. 309-313, 2003.

FATOUROS, I. G. et al. Cell-free plasma DNA as a novel marker of aseptic inflammation severity related to exercise overtraining. **Clinical Chemistry**, v. 52, n. 9, p. 1820-1824, 2006.

FATOUROS, I. G. et al. Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. **J Strength Cond Res**, v. 24, p. 3278–3286, 2010

FERGUSON, S. K. et al. Impact of dietary nitrate supplementation via beetroot juice on exercising muscle vascular control in rats. **Journal of Physiology**, v. 591, p. 547–557, 2013.

FILAIRE, E. et al. Effects of 6 weeks of n-3 fatty acids and antioxidant mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 8, p. 1829-1839, 2011.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative Stress: Relationship with Exercise and Training. **Sports Medicine**, v. 36, n.4, p.327-358, 2006.

GEE, L. C.; AHLUWALIA, A. Dietary Nitrate Lowers Blood Pressure: Epidemiological, Pre-clinical Experimental and Clinical Trial Evidence. **Current Hypertension Reports**, v.18, n. 2, p.17-31, 2016.

GEORGIEV, V. et al. Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, p. 105–111, 2010.

GHOLAMNEZHAD, Z. et al. Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 17, n. 1, p. 1-8, 2014.

GLADWIN, M.T. et al. The emerging biology of the nitrite anion. **Nature Chemical Biology**, v. 1, n. 6, p. 308–314, 2005.

GIBSON, R. S. **Principles of nutritional assessment**. New York: Oxford University, 1990.

GILCHRIST, M. et al. Dietary nitrate supplementation improves reaction time in type 2 diabetes: Development and application of a novel nitrate-depleted beetroot juice placebo. **Nitric Oxide**, v. 40, 67–74, 2014.

GOMES, E. C.; SILVA, A. N.; OLIVEIRA, A. R. Oxidants, Antioxidants, and the Beneficial Roles of Exercise-Induced Production of Reactive Species. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, ID 756132, 12 pages, 2012.

GIRARD, O.; MENDEZ-VILLANUEVA, A.; BISHOP, D. Repeated-sprint ability—Part I: Factors contributing to fatigue. **Sports Medicine**, v. 41, p. 673–694, 2011.

GOH, Q. et al. Recovery from cycling exercise: effects of carbohydrate and protein beverages. **Nutrients**, v. 4, n. 7, p. 568–84, 2012.

GOSTON, J. L.; MENDES, L. L. Perfil nutricional de praticantes de corrida de rua de um clube esportivo da cidade de Belo Horizonte, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, n. 1, 2011.

GOVONI, M. et al. The increase in plasma nitrite after a dietary nitrate load is markedly attenuated by an antibacterial mouthwash. **Nitric Oxide**, v. 19, p. 333–337, 2008.

GREEN, L. C. et al. Nitrate biosynthesis in man. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 78, n. 12, p. 7764–7768, 1981.

GROSSE, Y. et al. WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. **The Lancet Oncology**, v. 7, p. 628–629, 2006.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231–255, 2004

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants – quo vadis? **Trends in Pharmacological Sciences**, v.32, n.3, p.125–130, 2011.

HALSON, S. L.; JEUKENDRUP, A. E. Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. **Sports Medicine**, v. 34, n. 14, p. 967–981, 2007.

HARMS-RINGDAHL, M.; JENSSEN, D.; HAGHDOOST, S. Tomato juice intake suppressed serum concentration of 8-oxodG after extensive physical activity. **Nutrition Journal**, v. 2, p. 11-29, 2012.

HOLAVANAHALLI, R. K. et al. Select practices in management and rehabilitation of burns: a survey report. **Journal of Burn Care & Research**, v. 32, p. 210–223, 2011.

HOON, M. W. et al. The effect of variable doses of inorganic nitrate-rich beetroot juice on simulated 2000 m rowing performance in trained athletes. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 9, p. 615–620, 2014a.

HOON, M.W. et al. Nitrate supplementation and high-intensity performance in competitive cyclists. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 39, p. 1043–1049, 2014b.

HORD, N. G.; TANG, Y.; BRYAN, N. S. Food sources of nitrates and nitrites: The physiological context for potential health benefits. **Am. J. Clin. Nutr**, v. 90, p.1–10, 2009.

HOWATSON, G. et al. Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 20, n. 6, p. 843-852, 2010.

HYDE, E.R. et al. Metagenomic analysis of nitrate-reducing bacteria in the oral cavity: Implications for nitric oxide homeostasis. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. 1-13, 2014.

HYLDAHL, R. D.; HUBAL, M. J. Lengthening our perspective: Morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. **Muscle Nerve**, v. 49, p. 155–170, 2014.

IFCC- International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of creatine kinase. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 40, n. 6, p. 635-642, 2002.

JACKSON, A.S., POLLOCK, M.L. Generalized equations for predicting body density of men. **British Journal of Nutrition**, v.40, n.3, p.497-504, 1978.

JACKSON, A.S.; POLLOCK, M.L.; WARD, A. Generalized equations for predicting body density of women. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.12, n.3, p.175-181, 1980.

JAJJA, A. et al. Beetroot supplementation lowers daily systolic blood pressure in older, overweight subjects. **Nutrition Research**, v. 34, p. 1–8, 2014.

JONES, A. M. Dietary nitrate supplementation and exercise performance. **Sports Medicine**, v. 44, n. 1, p. 35-45, 2014.

KELLY, J. et al. Effects of nitrate on the power-duration relationship for severe-intensity exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 45, p.1798–1806, 2013.

KNOBELOCH, L. et al. babies and nitrate-contaminated well water. **Environ Health Perspect**, v.108, p.675–678, 2000.

KRAMER, S. J. et al. The effect of six days of dietary nitrate supplementation on performance in trained CrossFit athletes. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 13, n. 39, 2016.

KREHER, J. B.; SCHWARTZ, J. B. Overtraining syndrome: a practical guide. **Sports Health**, v. 4, n. 2, p.128-138, 2012.

KREIDER, R. B., et al. ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.7, n.7, p. 1-43, 2010.

KUEHL, K. S. et al. Efficacy of tart cherry juice in reducing muscle pain during running: a randomized controlled trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.7, n.17, p. 1550-2783, 2010.

LANSLEY, K. E. et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of walking and running: a placebo-controlled study. **Journal of Applied Physiology**, v. 110, n 3, p. 591-600, 2011a.

LANSLEY, K. E. et al. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 6, p. 1125-1131, 2011b.

LARSEN, F. J. et al. Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. **Acta Physiologica (Oxf)**, v. 191, n.1, p. 59-66, 2007.

LARSEN, F. J. et al. Dietary nitrate reduces maximal oxygen consumption while maintaining work performance in maximal exercise. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 15, n. 48, p. 342-347, 2010.

LARSEN, F. J. et al. Dietary Inorganic Nitrate Improves Mitochondrial Efficiency in Humans. **Cell Metabolism**, v. 13, p, 149–159, 2011.

LE MOAL, E. et al. Redox Control of Skeletal Muscle Regeneration. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.27, n.5, p. 276-310, 2017.

LEOPOLD, J. A.; LOSCALZO, J. Oxidative mechanisms and atherothrombotic cardiovascular disease. Drug Discovery Today: **Therapeutic Strategies**, v.5, n.1, p.5-13, 2008.

- LUNDBERG J. O.; WEITZBERG, E.; GLADWIN, M. T. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics, **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 7, n. 2, p. 156-167, 2008.
- LUNDBERG, J. O. et al. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. **Nature Chemical Biology**, v. 5, n. 12, p. 865–869, 2009.
- MARTIN, D.S. et al. Design and conduct of “xtreme alps”: A double-blind, randomised controlled study of the effects of dietary nitrate supplementation on acclimatisation to high altitude. **Contemporary Clinical Trials**, v. 36, p. 450–459, 2013.
- MARUTHUR, N.M.; WANG, N.Y.; APPEL, L.J. Lifestyle interventions reduce coronary heart disease risk: Results from the PREMIER trial. **Circulation**, v. 119, p. 2026–2031, 2009.
- MCLEAY, Y. et al. Effect of New Zealand blueberry consumption on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 1-19, 2012.
- MEAMARBASHI, A.; RAJABI, A. The effects of peppermint on exercise performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 10-15, 2013.
- MENSINGA, T.T.; SPEIJERS, G.J.A.; MEULENBELT, J. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. **Toxicological Reviews**, v. 22, p. 41–51, 2003.
- MIRANDA-VILELA, A. L. et al. Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**, v. 29, n. 12, p. 850-858, 2009.
- MIRANDA-VILELA A . L. **Exercise, injuries and athlete performance**, in: BASTOS, J. H., SILVA, A.C. New York, Nova Science Publishers, p 1–50, 2012.
- MIRVISH, S. S. Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. **Cancer Letters**, v.93, p. 17-48, 1995.
- MURPHY, M. et al. Whole beetroot consumption acutely improves running performance. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 4, p. 548-552, 2012.
- NEDERHOF, E. et al. Psychomotor speed: possibly a new marker for overtraining syndrome. **Sports Medicine**, v. 36, n. 10, p. 817-28, 2006.

NYAKAYIRU, J. et al. No Effect of Acute and 6-Day Nitrate Supplementation on VO₂ and Time-Trial Performance in Highly-Trained Cyclists. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise**, v. 6, p. 1-25, 2016.

NIKOLAIDIS, M. G. et al. D. The effect of muscledamaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. **Sports Medicine**, v. 38, p. 579–606, 2008.

NINFALI, P.; ANGELINO, D. Nutritional and functional potential of Beta vulgaris cicla and rubra. **Fitoterapia**, v. 89, p. 188–199, 2013.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n.2, p. 351-358, 1979.

OLIVEIRA, E. M. et al. Nutrição e bioquímica do exercício. **Revista paulista de educação física**, v. 18, p. 17-19, 2004.

PAWLAK-CHAOUCH, M. et al. Effect of dietary nitrate supplementation on metabolic rate during rest and exercise in human: A systematic review and a meta-analysis. **Nitric Oxide**, v. 29, n. 53, p. 65-76, 2016.

PEACOCK, O. et al. Dietary Nitrate Does Not Enhance Running Performance in Elite Cross-Country Skiers. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 12, p. 2213-2219, 2012.

PEELING, P. et al. Beetroot Juice Improves On-Water 500 M Time-Trial Performance, and Laboratory-Based Paddling Economy in National and International-Level Kayak Athletes. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 25, p. 278 -284, 2015..

PETROSKI, E. L. **Antropometria: técnicas e padronizações**. 2^a. ed. Porto Alegre: Pallotti, 2003.

PRESLEY, T. D. et al. Acute effect of a high nitrate diet on brain perfusion in older adults. **Nitric Oxide**, v. 24, p. 34–42, 2011.

PUYPE, J. et al. No effect of dietary nitrate supplementation on endurance training in hypoxia. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 25, n. 2, p.234-241, 2015.

QUÉTELET, A. **Antropométrie ou mesure des différentes facultés de l'homme**. Bruxelles, C. Muquardt, 1870.

RADAK, Z.; CHUNG, H. Y.; GOTO, S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 44, n.2, p.153-159, 2008.

RAGLIN, J. S.; MORGAN, W. P. Development of a scale to measure training-induced distress. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 21, n. 1, p. 60, 1989.

RAMEL, A.; WAGNER, K.H.; ELMADFA, I. Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. **British Journal of Sports Medicine**, v. 38, n.5, p. 1-3, 2004.

REDDY, M. K., ALEXANDER-LINDO, R. L.; NAIR, M. G. Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9268-9273, 2005.

ROBSON, P. J. Elucidating the unexplained underperformance syndrome in endurance athletes: the interleukin-6 hypothesis. **Sports Medicine**, v. 33, n.10, p.771-781, 2003.

ROGERO, M. M.; MENDES, R. M.; TIRAPEGUI. Aspectos neuroendócrinos e nutricionais em atletas com overtraining. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 3, p. 359-368, 2005.

SALGADO, J. V. V.; CHACON-MIKAHIL, M. P. T. Corrida de rua: análise do crescimento do número de provas e de praticantes. **Revista Conexões, Campinas**, v.4, n.1, p. 100-109, 2006.

SANTAMARIA, P. Review Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 10–17, 2006.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Cross-over Trials in Clinical Trial Research. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SENN, S. **Cross-over Trials in Clinical Research**, 2nd edn. John Wiley and Sons, 2002.

SHANNON, O. M. Dietary nitrate supplementation enhances short but not longer duration running time-trial performance. **European Journal of Applied Physiology**, v. 117, n. 4, p.775-785, 2017.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants**, Part A, v. 299, p.152–178, 1999.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA (BR). VI diretrizes

brasileiras de hipertensão. **Revista Brasileira de Hipertensão - Sociedade Brasileira de Cardiologia**, v. 13, n. 1, p. 1-66, 2010.

SILVENTOINEN, K. et al. Heritability of body size and muscle strength in young adulthood: a study of one million Swedish men. **Genetic Epidemiology**, v. 32, n. 4, p. 341–349, 2008.

SMITH, L. L. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? **Medicine and science in sports and exercise**, v. 32, n.2, p. 317-331, 2000.

SMITH, L.L. Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome? **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 18, n.1, p.185-193, 2004.

SPENCER, M. R.; GASTIN, P. B. Energy system contribution during 200- to 1500-m running in highly trained athletes. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 33, n. 1, p. 157–162, 2001.

SPEIJERS, G. J. A.; VAN DEN BRANDT, P.A, Nitrate (and potential endogenous formation of N-nitroso compounds). WHO Food Additives Series 50 (2004).

STEINACKER, J. M. et al. New aspects of the hormone and cytokine response to training. **European Journal of Applied Physiology**, v. 91, n. 4, p. 382-391, 2004.

SUZUKI, I. M. Exercise and serum enzymes. **Tairyoku Kag.** v. 51, n. 5, p. 407-422, 2002.

TAMME, T. et al. Nitrates and nitrites in vegetables and vegetable-based products and their intakes by the Estonian population. **Food Additives & Contaminants**, v. 23, n. 4, p. 355-61, 2006.

TANNENBAUM, S. R. et al. Nitrite in human saliva. Its possible relationship to nitrosamine formation. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 53, p. 79–84, 1974.

TARAZONA-DÍAZ, M. P. et al. Watermelon juice: potential functional drink for sore muscle relief in athletes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n.31, p. 7522-7528, 2013

TESORIERE, L. et al. In vitro digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digesta. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, n. 56, p. 10487-10492, 2008.

THOMPSON, C. et al. Dietary nitrate improves sprint performance and cognitive function during prolonged intermittent exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v.115, n. 9, p. 1825-34, 2015.

THOMPSON, C. et al. Dietary nitrate supplementation improves sprint and high-intensity intermittent running performance. **Nitric Oxide**, v. 30, n. 61, p. 55-61, 2016.

TOSCANO, L.T. et al. Potential ergogenic activity of grape juice in runners. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, n. 40, p. 899-906, 2015.

TOTZECK M. et al. Higher endogenous nitrite levels are associated with superior exercise capacity in highly trained athletes. **Nitric Oxide**, n. 27, v.2, p.75-81, 2012.

TSITSIMPIKOU, C. et al. Administration of tomato juice ameliorates lactate dehydrogenase and creatinine kinase responses to anaerobic training. **Food and Chemical Toxicology**, n. 61, p. 9-13, 2013.

TUBINO, M. J. G.; MOREIRA, S. B. **Metodologia científica do treinamento desportivo**, 13. ed. Rio de Janeiro: Shape, 2003.

VIANA, M.F.; ALMEIDA, P.L.; SANTOS, R.C. Adaptação portuguesa da versão reduzida do Perfil de Estados de Humor - POMS. **Análise Psicológica**, v.1, n.19, p.77-92, 2001.

VULIĆ, J. J. et al. In vivo and in vitro antioxidant effects of beetroot pomace extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 168–175, 2014.

WASSERMAN, D. H.; CHERRINGTON, A. D. Hepatic fuel metabolism during muscular work: role and regulation. **American Journal of Physiology**, n. 260, p. 811–824, 1991.

WELTMAN, A. et al. Prediction of lactate Threshold and fixed blood lactate concentrations from 3200 m running performance in male runners. **International Journal of Sports Medicine**, v. 8, n. 6. p. 401-406, 1987

WHO - World Health Organization. **Fruits and vegetables for health**. Report of a Joint FAO/WHO Workshop, p. 1-3, 2004.

WILKERSON, D.P. et al. Influence of acute dietary nitrate supplementation on 50 mile time trial performance in well-trained cyclists. **European Journal of Applied Physiology**, v. 112, p. 4127–4134, 2012.

WOOTTON-BEARD, P. C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion as measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin Ciocalteu methods. **Food Research International**, v. 44, p. 217–224, 2011.

WYATT, F. B.; DONALDSON, A; BROWN, E. The Overtraining Syndrome: A Meta-Analytic Review. **Journal of Exercise Physiology**, v. 16 n. 2, p. 12–23, 2013

WYLIE, L.J. et al. Beetroot juice and exercise: pharmacodynamic and dose-response relationships. **Journal of Applied Physiology**, v. 115, p. 325-336, 2013.

YAVARI, A. et al. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. **Asian Journal of Sports Medicine**, v. 6, n. 1, 2015.

ZALDIVAR, F., et al. Constitutive pro- and anti-inflammatory cytokine and growth factor response to exercise in leukocytes. **Journal of Applied Physiology**, v.100, n.4, p.1124-1133, 2006.

ZAMANI, P. et al. Effect of inorganic nitrate on exercise capacity in heart failure with preserved ejection fraction. **Circulation**, v. 131, n. 4, p. 371-80, 2015.

APÊNDICES

APÊNDICE A: ARTIGO

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE COMO MECANISMO DO EFEITO ERGOGÊNICO DO
SUCO DE BETERRABA: UM ESTUDO DUPLO CEGO RANDOMIZADO.

PERIÓDICO: APPLIED PHYSIOLOGY, NUTRITION AND METABOLISM

ÁREA: NUTRIÇÃO

QUALIS: A2

ISSN: 1715-5320 (VERSÃO ONLINE); 1715-5312 (VERSÃO IMPRESSA)

FATOR DE IMPACTO: 2,023

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE COMO MECANISMO DO EFEITO ERGOGÊNICO
DO SUCO DE BETERRABA: UM ESTUDO DUPLO CEGO RANDOMIZADO**

Ana Carla Lima de França¹, Lydiane Tavares Toscano¹, Eder Jackson Bezerra de Almeida²
Filho, Klécia de Farias Sena², Matheus da Silveira Costa¹, Aline Camarão Telles Biasoto³,
Alexandre Sérgio Silva²

¹Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

²Departamento de Educação Física, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, Brasil.

Autor correspondente:

Alexandre Sergio Silva,

Laboratório de Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e a Saúde, Departamento de Educação Física (DEF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Centro de Ciências da Saúde, Campus I, Cidade Universitária, CEP 58059-900, João Pessoa - PB, Brasil. Telefone: (+5583) 8875-4675 / 3216-7030. Email: alexandresergiosilva@yahoo.com.br.

RESUMO

Embora a beterraba seja estudada do ponto de vista do efeito ergogênico, ainda existem lacunas quanto aos mecanismos que explicam a melhora no desempenho. O objetivo foi investigar os efeitos da suplementação de suco de beterraba sobre o estresse oxidativo, desgaste muscular e desempenho de corredores recreacionais. Dez corredores recreacionais ($42,5 \pm 6,4$ anos, $\text{VO}_2 \text{ max } 55,2 \pm 6,9 \text{ mL/kg/min}$) realizaram um teste até a exaustão em esteira ergométrica à 80% do $\text{VO}_2 \text{ max}$ duas horas após consumir uma dose de 140 mL de suco de beterraba ($8,2 \text{ mmol de NO}_3^-$) ou bebida de controle. A concentração de nitrito aumentou significativamente com o suco de beterraba, entre a ingestão ($12,9 \pm 2,4 \mu\text{M}$ para $20,4 \pm 4,4 \mu\text{M}$, $p = 0,007$) e pós-exercício. O tempo de execução até a exaustão foi 22% maior com a ingestão do suco (BET: $49,3 \pm 18,7$, CONT: $40,4 \pm 18,2$ minutos, $p = 0,009$). O suco evitou o aumento do estresse oxidativo ($3,8 \pm 0,9 \mu\text{M}$ para $3,9 \pm 1,0 \mu\text{M}$, aumento de 2,6%) do período pré para o pós-exercício ($p = 0,01$). Não houve alteração na capacidade antioxidante total (CAT). CK aumentou tanto no grupo experimental ($181,5 \pm 41,3 \text{ U / L}$ para $261,1 \pm 77,2 \text{ U / L}$, $p = 0,03$ pré para pós-exercício) quanto no grupo controle ($215,6 \pm 126,1 \text{ U / L}$ para $316,8 \pm 164,6 \text{ U / L}$ $p = 0,016$). Para LDH, os valores permaneceram estatisticamente estáveis. O presente estudo demonstrou que o suco de beterraba promoveu redução do estresse oxidativo acompanhado de melhora do desempenho em teste de corrida até a exaustão.

Palavras-chaves: Dano muscular. Desempenho físico. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Although the beet is studied from the point of view of the ergogenic effect, there are still gaps in the mechanisms that explain the improvement in performance. The objective was to investigate the effects of supplementation of beet juice on oxidative stress, muscle wasting and performance of recreational runners. Ten recreational runners (42.5 ± 6.4 years, $\text{VO}_2 \text{ max}$ 55.2 ± 6.9 ml/kg/min) performed a test until exhaustion on an 80% treadmill of $\text{VO}_2 \text{ max}$ two hours after consuming a dose of 140 ml of beet juice (8.2 mmol of NO_3^-) or control drink. The concentration of nitrite increased significantly with beet juice, between intake (12.9 ± 2.4 μM for 20.4 ± 4.4 μM , $p = 0.007$) and post-exercise. Running time to exhaustion was 22% higher with juice intake (BET: 49.3 ± 18.7 , CONT: 40.4 ± 18.2 minutes, $p = 0.009$). The juice prevented oxidative stress increase (3.8 ± 0.9 μM to 3.9 ± 1.0 μM , 2.6% increase) from the pre-post-exercise period ($p = 0.01$). There was no change in total antioxidant capacity (CAT). CK increased both in the experimental group (181.5 ± 41.3 U / L for 261.1 ± 77.2 U / L, $p = 0.03$ pre for post-exercise) and in the control group (215.6 ± 126.1 U / L for 316.8 ± 164.6 U / L, $p = 0.016$). For LDH, the values remained statistically stable. The present study demonstrated that beet juice promoted reduction of oxidative stress accompanied by improvement of performance in a race test until exhaustion.

Key-words: Muscle damage. Physical performance. Oxidative stress.

INTRODUÇÃO

A beterraba é um alimento rico em antioxidantes como as betalainas (betanina e betanidin) (REDDY, ALEXANDER-LINDO, NAIR, 2005; TESORIERE et al., 2008), compostos fenólicos como rutina, epicatequina e ácido caféico (MANACH, MAZUR, SCALBERT, 2005; GEORGIEV et al., 2010), e alta concentração de nitrato (NO_3^-). Apesar da rica composição fenólica, os efeitos ergogênicos encontrados para a beterraba em atletas, tem sido atribuído apenas ao NO_3^- .

Os efeitos ergogênicos encontrados na beterraba incluem redução na percepção subjetiva do esforço (MURPHY et al., 2012), melhora no consumo de oxigênio (BAILEY et al, 2009; BAILEY et al, 2010; LANSLEY et al., 2011a; LARSEN et al., 2010; CERMAK et al., 2012b) e melhora no desempenho em testes até a exaustão em corredores (MURPHY et al., 2012) e de ciclistas em prova contra-relógio (CERMAK et al., 2012b; LANSLEY et al., 2011b).

A participação do NO_3^- como mecanismo que explica os efeitos ergogênicos é vista na revisão de Jones (2014), os autores indicam que os mecanismos envolvidos na melhoria do desempenho promovida pela beterraba são vasodilatação, angiogênese, respiração mitocondrial, biogênese mitocondrial, captação de glicose, redução no consumo de ATP, devido efeito sobre o retículo sarcoplasmático de cálcio (Ca^{2+}). Esses mecanismos estão associados com a produção de óxido nítrico que está aumentada por causa do alto conteúdo de nitrato na beterraba.

Entretanto, a rica composição antioxidante da beterraba não pode ser desprezada, uma vez que é sabido que sessões de exercício promovem importante estresse oxidativo (FATOUROS et al., 2006; KREHER et al., 2012), e que este fenômeno está envolvido na etiologia do *overtraining* (WYATT, DONALDSON, BROWN et al., 2013; GHOLAMNEZHAD et al., 2014), fenômeno caracterizado por perda de desempenho de atletas por excesso de treino, repouso e/ou nutrição inadequados. Por outro lado, Estudos recentes tem mostrado que alimentos ricos em antioxidantes como a uva (TOSCANO et al., 2015), e o gergelim (BARBOSA et al., 2017), promoveram melhora do rendimento físico de atletas acompanhado por aumento da capacidade antioxidante.

Por isso, pode-se hipotetizar que um aumento da capacidade antioxidante pode ser mais um mecanismo pelo qual a beterraba aprimora o desempenho físico. Clifford et al.,

(2016a) investigaram uma possível ação antioxidante para explicar o efeito ergogênico da beterraba, e esta hipótese não se confirmou.

Além disso, durante o exercício, ocorre desgaste tecidual do músculo esquelético, o que contribui para a perda de desempenho (CHAPMAN et al., 2006), sendo este um dos mecanismos mais clássicos para a fadiga em exercícios de longa duração. Apesar deste fenômeno, se a beterraba minimiza o dano muscular é algo que ainda tem sido pouco explorado para este alimento. Dos poucos estudos que investigaram uma possível ação da beterraba em reduzir o dano muscular para explicar o efeito ergogênico da beterraba, esta hipótese não se confirmou (CLIFFORD et al., 2016b; BETTERIDGE et al., 2016).

Diante destas lacunas, este trabalho se insere com a proposta de promover avanços no entendimento dos efeitos ergogênicos da beterraba por explorar os mecanismos ainda pouco investigados, particularmente no estresse oxidativo e no dano muscular promovido por sessões de exercício intenso. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da suplementação do suco de beterraba sobre estresse oxidativo, desgaste muscular e desempenho de corredores recreacionais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sujeitos

O presente estudo foi realizado com 10 praticantes de corrida de rua em nível recreacional, do sexo masculino, com idade $42,1 \pm 6,6$ anos. Os corredores foram recrutados dos ambientes em que realizam seus treinos (pista de atletismo e orla litorânea da cidade de João Pessoa). Para participarem do estudo, os voluntários deveriam ser praticantes de corrida há pelo menos um ano e estar realizando treinamentos ininterruptamente há pelo menos três meses, com pelo menos três sessões semanais de corrida, pelo menos dois dias de outras atividades físicas complementares e treinar com o objetivo de participar de competições de corrida de longa duração. Foram excluídos do estudo os voluntários que apresentassem alguma doença crônica degenerativa, fossem tabagistas ou fizessem uso contínuo de qualquer medicamento, não participassem de todos os procedimentos experimentais ou apresentassem desconforto gastrointestinal ao suco de beterraba ou bebida controle.

O projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa com seres humanos do Centro de Ciências da Saúde (CCS), sendo aprovado sob protocolo nº 0640/16. Todos os sujeitos que

participaram da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido conforme resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Desenho do Estudo

Este estudo é caracterizado como experimental clínico, randomizado e controlado, com desenho cross over e duplo cego. Inicialmente foi realizado um teste para determinação da capacidade aeróbia (3.200 metros). Nas duas semanas posteriores, os participantes realizaram os procedimentos experimentais (suco de beterraba ou bebida controle) no formato apresentado na figura 1. Foram randomizados para iniciar os procedimentos com uma dose de 140 mL de suco de beterraba ou bebida controle (www.randomizer.org), duas horas antes de um teste até a exaustão em esteira ergométrica a 80% VO_2 max. Frequência cardíaca e percepção subjetiva de esforço foram tomadas a cada 10 minutos durante o teste. Coletas sanguíneas foram realizadas antes da ingestão do suco de beterraba ou bebida controle, 2 horas após a ingestão do suco de beterraba, e após o teste até a exaustão para posterior análise de marcadores de dano muscular [creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH)], de estresse oxidativo [malondialdeído (MDA), capacidade antioxidante total (CAT) e nitrito].

Preparação para os procedimentos com exercício

Os voluntários do estudo foram orientados a suspender os exercícios físicos 48 horas antes do teste determinante da capacidade aeróbia (teste 3.200 metros), bem como antes das sessões experimentais. Foram orientados a não ingerir suplementos nutricionais, alimentos fontes de vitaminas antioxidantes e ricos em NO_3^- , durante o estudo a fim de assegurar a exclusão de quaisquer efeitos associados à alimentação sobre o procedimento experimental. Adicionalmente, abster-se do consumo de cafeína e bebidas alcoólicas 6 e 24 h, respectivamente, antes de cada ensaio, e do uso de antissépticos bucais durante todo o experimento, pois estes são conhecidos por erradicar as bactérias orais que são necessárias para a conversão de NO_3^- em NO_2^- (GOVONI et al, 2008). O consumo alimentar foi avaliado antes do início e durante o estudo através do recordatório alimentar de 24 horas (GIBSON, 1990). A ingestão alimentar foi monitorada no dia anterior e no dia da realização das sessões experimentais com suco de beterraba e controle. Os indivíduos foram orientados a manter seus padrões alimentares habituais.

Teste até Exaustão

Inicialmente foi feita uma determinação da capacidade aeróbia máxima, por meio de teste seguindo o protocolo proposto por Weltmann (1989) (3200m no menor tempo possível). Uma semana depois foi dado início as sessões experimentais. Seguindo a ordem previamente estabelecida de forma randômica, os atletas realizaram um teste até a exaustão a 80% do VO_2 max, com suplementação de beterraba ou uma bebida controle com diferença de uma semana entre cada procedimento em esteira ergométrica (Moviment, São Paulo, Brasil) em ambiente climatizado, com temperatura entre 22 e 25° C e umidade do ar em torno de 65%, controlados medidos por termohigrógrafo (TFA HT-7429, São Paulo, Brasil). Para controle da intensidade foi usado um cardiofrequencímetro da marca Polar, modelo RS800CX (Polar Electro® Oy, Kempele, Finland), para registro da frequência cardíaca a cada 10 minutos. A escala de percepção de esforço de Borg (Borg, 1982) foi utilizada para se obter a sensação de esforço dos atletas durante esta corrida. O critério de interrupção do teste foi à incapacidade de manter-se na velocidade determinada, mesmo diante de estímulo verbal dos pesquisadores. O resultado foi dado em minutos e segundos de corrida. Foi solicitado aos atletas que nas 48 horas antecedentes ao teste não realizassem qualquer exercício físico.

Suplementação

Os indivíduos chegaram ao laboratório em jejum de pelo menos 8 horas e realizaram desjejum padronizado (sanduíche com queijo) contendo 55,9 g de carboidratos, 14,3 proteínas e 9,4 g de gordura. O sanduíche foi acompanhado de 140 mL de suco de beterraba ou bebida controle, ingerido duas horas antes do teste até a exaustão. Os sujeitos foram randomizados para iniciarem os procedimentos com bebida experimental ou controle (www.randomizer.org).

A bebida experimental foi um suco comercial de beterraba (Beet It Sport, James White Drinks, Ipswich, Reino Unido), apresentando 98% de suco de beterraba concentrado e 2% suco de limão. Foram utilizado dois frascos de 70 mL do suco, para um consumo total de 140 mL conforme dose adotada por Wylie et al. (2013). As informações nutricionais do suco estão apresentadas na tabela 1.

Nos estudos prévios, a utilização do procedimento controle ou placebo são bem distintos, sendo utilizados cloreto de sódio (NaCl) dissolvido em água (BESCÓS et al., 2011; BAILEY et al., 2009; BAILEY et al., 2010), maltodextrina (PEACOCK et al., 2012), suco de

groselha preta (BOND et al., 2012), bebida com abóbora, proteína e maltodextrina (CLIFFORD et al., 2016b). No presente estudo, foi adotado uma bebida de cor similar ao suco de beterraba, como controle, a qual foi um suco com sabor artificial de uva sem antioxidantes e sem nitrato, desenvolvido para fins específicos de pesquisa (Aliança Premier, Vinícola Nova Aliança, Flores da Cunha-RS, Brasil). Os atletas consumiram 10 mL/ kg/ dia, sendo que cada 200mL da bebida apresentava valor energético de 140kcal e 33g de CHO.

Coleta Sanguínea

Dez mililitros de sangue foram coletados a partir da veia antecubital por enfermeira devidamente experiente, antes da ingestão do suco de beterraba ou bebida controle, imediatamente após 2 horas à suplementação, e após o teste até a exaustão. O sangue foi imediatamente colocado em tubos e centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos, sendo então refrigerado a -20 °C até o momento das análises.

Estresse Oxidativo

A atividade oxidante do malondialdeído (MDA) foi quantificada por meio da reação do ácido tiobarbitúrico com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos, conforme método descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979). Enquanto isso, a capacidade antioxidante total (CAT) foi quantificada em plasma via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil através do método descrito por Brand-Williams et al. (1995).

Desgaste Muscular

As concentrações plasmáticas de creatinaquinase (CK) foram quantificadas através do método International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (UV-IFCC) e a enzima lactato desidrogenase (LDH) através do método Piruvato-Lactato, ambos por meio de kits comerciais específicos (Labtest, Minas Gerais, Brasil), em analisador automatizado Labmax 240 premium (Labtest, Minas Gerais, Brasil), conforme instruções do fabricante.

Nitrito plasmático

As concentrações de nitrito plasmático serão determinadas pela reação de Griess que quantifica o nitrito na amostra através da reação de diazotização formando um cromóforo de cor rósea. O reagente será preparado utilizando partes iguais de ácido fosfórico 5%, sulfanilamida 1% em ácido fosfórico a 5%, N-(1-Naphtyl)-ethylenediamine dihydrochloride (NEED) a 0,1% e água destilada. Seguir-se-á a detecção do nitrito/nitrato com adição de 500 µL do reagente de Griess a 500 µL do plasma. Após 10 minutos, a absorbância foi medida em um espectrofotômetro (Biospectro SP-22, Curitiba, Brasil) a um comprimento de onda de 532nm. As concentrações de nitrito foram calculadas por extrapolação para uma curva padrão de NaNO₂ e os dados expressos em micromoles (GREEN et al, 1981).

Tratamento Estatístico

Os dados serão expressos como média e desvio padrão da média. Após testar os dados para normalidade e homogeneidade por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Levine, será utilizado o teste ANOVA one way ou two-way, conforme o caso, ou seus correspondentes não paramétricos, para verificar diferenças entre as concentrações de CK, MDA, lactato e glicemia nos diferentes protocolos. As análises serão realizadas por meio do software Instat 3.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA), adotando significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Caracterização da amostra

As características iniciais dos corredores recreacionais avaliados estão apresentadas na tabela 2. Eles apresentavam capacidade aeróbia classificada como excelente para os propósitos de saúde (ACSM 2000). Todos praticavam corrida pelo menos três vezes por semana, sendo que 50% praticavam cinco vezes por semana, 40% seis vezes por semana e 10 % três vezes por semana. Todos realizavam atividades complementares além dos treinos de corrida, sendo estas, musculação (70%) ou ciclismo (30%). Na avaliação feita antes de cada sessão dos procedimentos experimentais com suco de beterraba ou bebida controle, eles se mostraram com valores inicialmente similares para nitrito, MDA e CAT, enquanto CK e LDH partiram de valores diferentes. Estes valores estão apresentados na tabela 2.

Consumo alimentar

Conforme apresentado na tabela 3, considerando os valores de referência proposto pela International Society of Sports Nutrition (KREIDER et al., 2010) os corredores consumiram uma dieta hipocalórica durante o estudo. Entretanto, apresentaram uma ingestão adequada para todos os macronutrientes. Quanto aos micronutrientes, vitamina C, vitamina D e selênio estavam adequados. Em contrapartida apresentaram baixa ingestão de vitamina A, vitamina E, cobre, zinco e manganês. Durante o período de intervenção os corredores mantiveram os hábitos alimentares. Além disso, os atletas não relataram desconforto gastrointestinal com a suplementação do suco de beterraba ou bebida controle.

Nitrito sérico

Os dados apresentados na figura 2 mostram que a concentração de nitrito aumentou significativamente com a suplementação do suco de beterraba, entre a ingestão do suco (BET: $12,9 \pm 2,4 \mu\text{M}$; BET: $20,4 \pm 4,4 \mu\text{M}$, $p=0,007$) e o momento pós-exercício, que ocorreu duas horas após a ingestão do suco, sendo um aumento de 58,14%. O mesmo não ocorreu no procedimento controle, (CONT: $12,3 \pm 3,6 \mu\text{M}$; CONT: $14,0 \pm 4,4 \mu\text{M}$, $p=0,919$). Desta forma os atletas iniciaram o exercício com níveis plasmático de nitrito significativamente maior no procedimento com ingestão do suco em relação ao procedimento com ingestão da bebida controle e mantiveram estes valores aumentados durante todo o exercício, uma vez que os níveis séricos de nitrito permaneciam elevados imediatamente após o exercício no procedimento experimental ($p=0,000$) sem que o mesmo ocorresse no procedimento controle ($p=1,000$).

Teste de desempenho

A velocidade média percorrida pelos corredores nos dois testes de corrida até a exaustão foi de $12,6 \pm 1,6 \text{ Km/h}$ (80% do $\text{VO}_2 \text{ max}$). Os dados apresentados na figura 3 mostram que, no procedimento com ingestão do suco de beterraba, conseguiram manter a corrida por um tempo 22% maior em comparação com o tempo de corrida no teste seguido da ingestão da bebida controle (BET: $49,3 \pm 18,7$; CONT: $40,4 \pm 18,2$ minutos, $p=0,009$) (figura 3, painel A). Consequentemente, a distância percorrida no procedimento com ingestão

do suco de beterraba $11,3 \pm 3,8$ Km, contra $10,0 \pm 4,4$ Km ($p=0,086$) para a corrida pós bebida controle (figura 3, painel B).

Estresse oxidativo

Enquanto a corrida promoveu aumento de 25,6% no estresse oxidativo quando os atletas ingeriram previamente a bebida controle ($3,9 \pm 0,7$ μ M para $4,9 \pm 0,7$ μ M) nos momentos pré para pós-exercício ($p=0,01$), o que é um comportamento esperado para uma sessão de exercício, a ingestão do suco de beterraba impediu o aumento no estresse oxidativo após o teste de corrida até a exaustão ($3,8 \pm 0,9$ μ M para $3,9 \pm 1,0$ μ M, aumento de 2,6%) dos momentos pré para pós-exercício ($p=0,08$), como pode ser observado na figura 4 (painel A). Por outro lado, não houve alteração estatisticamente significativa para a capacidade antioxidante (CAT) entre os momento pré e pós corrida em ambos os procedimento (figura 4, painel B).

Dano muscular

Os testes de corrida provocaram desgaste muscular, visto por aumento na concentração sérica de CK tanto no grupo experimental ($181,5 \pm 41,3$ U/L para $261,1 \pm 77,2$ U/L, $p=0,03$ e 43,8% de aumento do pré para o pós-exercício) quanto o grupo controle ($215,6 \pm 126,1$ U/L para $316,8 \pm 164,6$ U/L, $p=0,016$ e 46,9% de aumento entre os mesmos momentos). Entretanto na análise da interação tempo x grupo, observou-se que não houve diferenças entre os procedimentos experimental e controle, o que indica que o suco de beterraba não teve influencia protetora sobre a elevação da CK. Para LDH, os valores se mantiveram estatisticamente estáveis do pré para ao pós exercício nos dois procedimentos testados.

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que a ingestão aguda de suco de beterraba promoveu redução no estresse oxidativo acompanhado de melhora no desempenho em um teste de corrida até a exaustão em atletas corredores de nível recreacional.

Até o presente estudo, a capacidade ergogênica da beterraba tem sido demonstrada por aumentar o tempo até a exaustão em corredores e ciclistas, sendo este fenômeno ocasionado

pelo aumento na produção de óxido nítrico. De fato, os estudos mostram importante aumento de desempenho em atletas de nível amador e efeito ergogênico mais discreto em atletas de alto nível (CLEMENTS et al., 2014; JONES et al., 2014). A pertinência do presente estudo, também diz respeito à modalidade de exercício e ao protocolo de teste, uma vez que a maioria dos estudos foram realizados com ciclistas em provas contra relógio, o que difere de teste até a exaustão. Além disso, o tempo de prova de ciclistas costuma ser maior, por causa das maiores distância percorridas em relação às provas de corrida.

Lansley et al. (2011b) investigaram a suplementação aguda de 500 mL de suco de beterraba (6,2 mmol de nitrato) em nove ciclistas recreacionais, em que os atletas concluíram em menor tempo um contra-relógio 4-km seguido de outro contra-relógio de 16,1 km após 2h e 30 min. da ingestão do suco. No estudo HOON et al., 2014a dez remadores também apresentaram melhor desempenho ao completar um contra-relógio em ciclo ergométrico de 2000 m após consumir uma dose 140mL (8,4 mmol NO₃-) de suco de beterraba duas horas antes do exercício. Portanto, o presente estudo é relevante para formar um corpo de evidências na especificidade da modalidade esportiva, que é beneficiada pelo suco de beterraba, principalmente em corredores recreacionais.

Entretanto, o mais importante achado deste estudo diz respeito à investigação dos mecanismos envolvidos no efeito ergogênico da beterraba. Enquanto existe um consenso de que o óxido nítrico é o principal mecanismo associado ao efeito ergogênico, estudos prévios indicando melhora do desempenho com alimentos ricos em antioxidantes deram origem a hipótese deste estudo. Dentre os alimentos previamente investigados, como chocolate escuro que reduziu isopostanos, (ALGROOVE et al, 2011; DAVISON et al, 2012). Howatson et al., (2010) também demonstraram redução dos níveis de MDA em corredores de maratona com ingestão de cherry juice. Enquanto isso, Toscano et al., (2015), verificaram aumento da capacidade antioxidante total concomitante com aumento do tempo de corrida até a exaustão com suco de uva, sendo que este estudo foi realizado com a ingestão no curso de 28 dias.

Em estudo prévio que investigou uma possível participação antioxidante da beterraba e não encontraram este efeito, deve ser salientado que o protocolo foi bem distinto do presente estudo. Clifford et al., (2016a), não encontraram atenuação do estresse oxidativo, dano muscular ou melhora do desempenho em teste de corrida até a exaustão em 20 jogadores profissionais (futebol, basquete, hóquei e handebol). Nesse estudo os atletas consumiram 500 mL de suco de beterraba durante três dias (no dia da corrida, após 24 h e 48 h após o exercício). Os marcadores avaliados foram creatina quinase e hidroperóxidos lipídicos (LOOH).

De fato, o presente estudo demonstrou que a beterraba minimizou a peroxidação lipídica. Enquanto isso, não houve aumento da capacidade antioxidante, o que poderia limitar a conclusão de que a beterraba atuaria por efeito antioxidante. Entretanto deve ser ressaltado que o estudo foi feito com uma dose única de suco de beterraba, seguida do exercício que é um agente promovedor de peroxidação lipídica (CRUZAT et al., 2007). Então, é provável que as substâncias antioxidantes agiram logo depois da absorção intestinal combatendo diretamente a ação das espécies reativas de oxigênio, minimizando assim sua reação com as membranas lipídicas ou DNA, com consequente redução da produção de MDA. Além disso, os estudos que mostram aumento da atividade antioxidante são todos crônicos, com suplementação ou ingestão de algum alimento por vários dias.

A dose e a posologia usada em nosso estudo seguiu a tendência prévia. O aumento na concentração de nitrito plasmático ocorrido duas horas após a ingestão de 140 mL de suco de beterraba (800 mg de NO_3^-) foi demonstrado por Hoon et al., (2014a). Wylie et al. (2013a) fez várias medidas de nitrito plasmático (1, 2, 4, 8, 6, 12 e 24 horas) após administração do suco e concluiu que o pico plasmático de nitrito ocorre entre 2 a 3 horas após a ingestão do suco. Neste mesmo estudo, os autores demonstraram que uma dose de 140 mL (800 mg de NO_3^-) promove melhora do desempenho em teste até a exaustão, e que uma dose de maior de 280 mL não apresenta efeito adicional ao desempenho. Tomando estes dados prévios e os dados de nosso estudo, podemos ressaltar que a mesma dose que promove retardamento da fadiga também é capaz de promover atividade antioxidante.

Embora a beterraba seja rica em antioxidantes, pode ser que o óxido nítrico aumentado pela suplementação tenha participado deste processo, é sabido que este gás tem ação antioxidante em situações de estresse oxidativo (STABLER et al., 2010). Então, é plausível realizar estudos com nitrato isolado (sem antioxidantes), e verificar se os achados deste estudo se reproduzem para se afirmar com mais segurança se o efeito minimizador da peroxidação foi somente pelos compostos antioxidantes ou também pelo NO.

Finalmente, o estudo mostrou que a melhora do desempenho não foi por proteção do tecido muscular, convém salientar que os grupos partiram de valores diferentes. A variação de CK e LDH de um dia para outro é algo comum nestas duas variáveis. Elas são muito lábeis e se modificam por pequenos danos musculares (KOCH, PEREIRA, MACHADO et al., 2014).

Embora os estudos com beterraba tenham demonstrando aumento da performance em atletas, poucos haviam sido realizados com corredores. Então o presente estudo não apenas confirma o feito ergogênico, mas também melhora o corpo de evidências na modalidade de

corrida. Entretanto, o achado mais importante foi que o suco promoveu efeito ergogênico por redução do estresse oxidativo.

CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a ingestão aguda de suco de beterraba duas horas antes de um teste até a exaustão, promoveu elevação significativa nos níveis plasmáticos de nitrito, melhoria no desempenho de corredores recreacionais, além da atenuação do estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

- Allgrove, J., Farrell, E., Gleeson, M., Williamson, G., and Cooper, K. 2011. Regular dark chocolate consumption's reduction of oxidative stress and increase of free-fatty-acid mobilization in response to prolonged cycling. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, **21**(2): 113-123. PMID: 21558573.
- American College of Sports Medicine (ACSM) 2000. *Guidelines for Graded Exercise Testing and Exercise Prescription*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. pp. 300-312.
- Bailey, S.J., Winyard, P., Vanhatalo, A., Blackwell, J.R., DiMenna, F.J., Wilkersonet, D.P. et al. 2009. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*, **107**(4):1144-1155. doi:10.1152/jappphysiol.00722.2009.
- Bailey, S. J., Fulford, J., Vanhatalo, A., Winyard, P.G., Blackwell, J.R., DiMenna, F.J. et al. 2010. Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*, **109**(1):135–148. doi:10.1152/jappphysiol.00046.2010.
- Barbosa, C.V., Silva, A.S., de Oliveira, C.V., Massa, N.M., de Sousa, Y.R., da Costa, W.K., et al. 2017. Effects of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Supplementation on Creatine Kinase, Lactate Dehydrogenase, Oxidative Stress Markers, and Aerobic Capacity in Semi-Professional Soccer Players. *Front Physiol.* **31**(8):196. doi: 10.3389/fphys.2017.00196
- Bescós, R., Rodríguez, F.A., Iglesias, X., Ferrer, M.D., Iborra, E., and Pons, A. 2011. Acute Administration of Inorganic Nitrate Reduces VO₂peak in Endurance Athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, **43**(10):1979-86. doi: 10.1249/MSS.0b013e318217d439

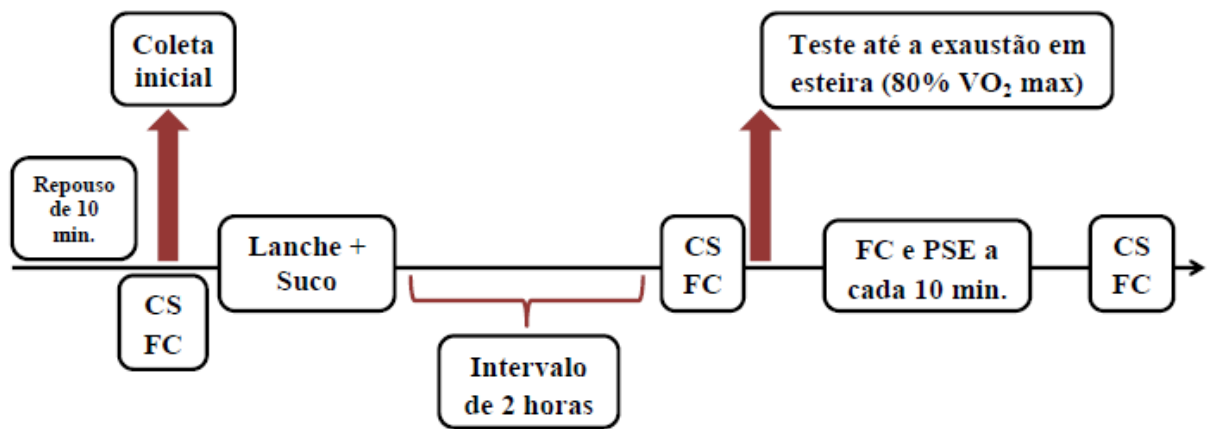
- Betteridge, S., Bescós, R., Martorell, M., Pons, A., Garnham, A.P., Stathis, C.C., et al. 2016. No effect of acute beetroot juice ingestion on oxygen consumption, glucose kinetics, or skeletal muscle metabolism during submaximal exercise in males. *Journal of Applied Physiology*, **120**(4):391-398. doi: 10.1152/jappphysiol.00658.2015.
- Bond, H., Morton, L., and Braakhuis, A. J. 2012. Dietary Nitrate Supplementation Improves Rowing Performance in Well-Trained Rowers. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, **22**(4):251-256. PMID: 22710356
- Borg, G.A. 1982. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **14**(5), 377-381. PMID:7154893.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.*, **28**(1): 25-30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Cermak, N.M., Gibala, M.J., and Van Loon, L.J. 2012. Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, **22**(1):64-71. doi:
- Chapman, D., Newton, M., Sacco, P., and Nosaka, K. 2006. Greater Muscle Damage Induced by Fast Versus Slow Velocity Eccentric Exercise. *International Journal of Sports Medicine*. **27**(8):591-598. doi: 10.1055/s-2005-865920
- Clements, W.T., Lee, S. R., and Bloomer, R.J. 2014. Nitrate ingestion: a review of the health and physical performance effects. *Nutrients*, **6**(11):5224-5264. doi:10.3390/nu6115224
- Clifford, T., Bell, O.2., West, D.J., Howatson, G., and Stevenson, E.J. 2016a. The effects of beetroot juice supplementation on indices of muscle damage following eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology*, **116**(2):353-362. doi: 10.1007/s00421-015-3290-x.
- Clifford, T., Bell, O., West, D.J, Howatson, G., Stevenson, E.J. 2016b. Antioxidant-rich beetroot juice does not adversely affect acute neuromuscular adaptation following eccentric exercise. *Journal of Sports Sciences*, **35**(8):812-819. doi: 10.1080/02640414.2016.1192670.
- Cruzat, V.F., et al. 2007. Current aspects of oxidative stress, physical exercise and supplementation. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, **13**(5): 304-310.
- Davison, G., Callister, R., Williamson, G., Cooper, K.A., Gleeson, M. 2012. The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. *European Journal of Nutrition*, **51**(1):69-79. doi: 10.1007/s00394-011-0193-4.

- Eng, J. 2003. Sample size estimation: how many individuals should be studied?. *Radiology*, **227**(2): 309-313. PMID: 12732691.
- Gholamnezhad, Z. Boskabady, M.H., Hosseini, M., Sankian, M., Khajavi, Rad, A. 2014. Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **17**(1):1-8. PMCID: PMC3938879
- Gibson, R. S. Principles of nutritional assessment. 1990. New York: Oxford University.
- Govoni, M., Jansson, E.A., Weitzberg, E., Lundberg, J.O. 2008. The increase in plasma nitrite after a dietary nitrate load is markedly attenuated by an antibacterial mouthwash. *Nitric Oxide*, **19**(4):333-7. doi: 10.1016/j.niox.2008.08.003.
- Green, L.C., Ruiz de Luzuriaga, K., Wagner, D.A., Rand, W., Istfan, N., Young, V.R.. 1981. Nitrate biosynthesis in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **78**(12):7764–7768. PMCID: PMC349351
- Hoon, M.W., Jones, A.M., Johnson, N.A., Blackwell, J.R., Broad, E.M., Lundy, B., et al. 2014. The effect of variable doses of inorganic nitrate-rich beetroot juice on simulated 2000 m rowing performance in trained athletes. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, **9**(4):615-20. doi: 10.1123/ijsp.2013-0207.
- Howatson, G., McHugh, M.P., Hill, J.A., Brouner, J., Jewell, A.P., Van Someren, K.A. 2010. Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, **20**(6):843-852. doi: 10.1111/j.1600-0838.2009.01005.x.
- Jones, A. M. 2014. Dietary nitrate supplementation and exercise performance. *Sports Medicine*, **44**(Suppl 1):S35–S45.doi: 10.1007/s40279-014-0149-y.
- Kreher, J.B. and Schwartz, J.B. 2012. Overtraining syndrome: a practical guide. *Sports Health*, **4**(2): 128-138.
- Kreider, R. B., Wilborn, C.D., Taylor, L., Campbell, B., Almada, A.L., Collins, R. et al. 2010. ISSN exercise and sport nutrition review: research and recommendations. *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, **7**(7): 1-43. doi:10.1186/1550-2783-7-7.
- Lansley, K.E., Winyard, P.G., Bailey, S.J., Vanhatalo, A., Wilkerson, D.P., Blackwell, J.R., et al. 2011. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, **43**(6):1125-31. doi: 10.1249/MSS.0b013e31821597b4.

- Larsen, F.J., Weitzberg, E., Lundberg, J.O., and Ekblom, B. 2010. Dietary nitrate reduces maximal oxygen consumption while maintaining work performance in maximal exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, **48**(2):342-7. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.006.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., and Rémésy, C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81:230–242. PMID: 15640486
- Murphy, M., Eliot, K., Heuertz, R.M., and Weiss, E. 2012. Whole beetroot consumption acutely improves running performance. *J. Acad. Nutr. Diet*, **112**(4): 548-552. doi: 10.1016/j.jand.2011.12.002.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**(2): 351-358. doi:10.1016/0003-2697(79)90738-3.
- Peacock, O., Tjknna, A.E., James, P., Wislkff, U., Welde, B., Bohlke, N., et al. 2012. Dietary Nitrate Does Not Enhance Running Performance in Elite Cross-Country Skiers. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, **12**:2213-2219. doi: 10.1249/MSS.0b013e3182640f48.
- Reddy, M. K., Alexander-Lindo, R. L.; and Nair, M. G. 2005. Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 9268-9273. doi: 10.1021/jf051399j
- Stabler, T., Kenjale, A., Ham, K., Jelesoff N., and Allen J. 2010. Potential mechanisms for reduced delivery of nitric oxide to peripheral tissues in diabetes mellitus. *Annals of The New York Academy of Sciences*, **1203**:101-106. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05599.x.
- Tesoriere, L. et al. 2008. In vitro digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **26**(56):10487-10492. doi: 10.1021/jf8017172
- Toscano, L.T., Tavares, R.L., Toscano, L.T., Silva, C.S., Almeida, A.E., Biasoto, A.C. et al. 2015. Potential ergogenic activity of grape juice in runners. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, **40**(9):899-906. doi: 10.1139/apnm-2015-0152.
- Weltman, A., Snead, D., Seip, R., Schurrer, R., Levine, S., Rutt, R., et al. 1987. Prediction of lactate Threshold and fixed blood lactate concentrations from 3200 m running performance in male runners. *International Journal of Sports Medicine*, **8**(6)401-406. doi: 10.1055/s-2008-1025694
- Wyatt, F. B.; Donaldson, A; and Brown, E. 2013. The Overtraining Syndrome: A Meta-Analytic Review. *Journal of Exercise Physiology*, **16**(2)12–23.

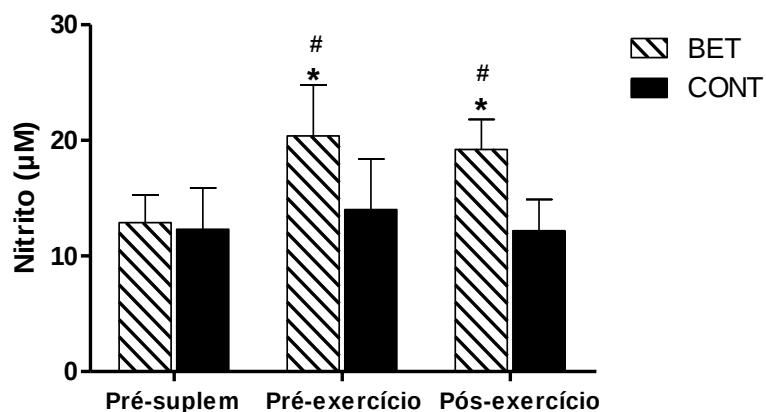
Wylie, L.J., Kelly, J., Bailey, S.J., Blackwell, Jamie, R., Skiba, P.F., Winyard, P.G. 2013. Beetroot juice and exercise: pharmacodynamic and dose-response relationships. *Journal of Applied Physiology*, **1**(115): 325–336. doi:10.1152/jappphysiol.00372.2013.

Figura 1: Desenho do procedimento experimental



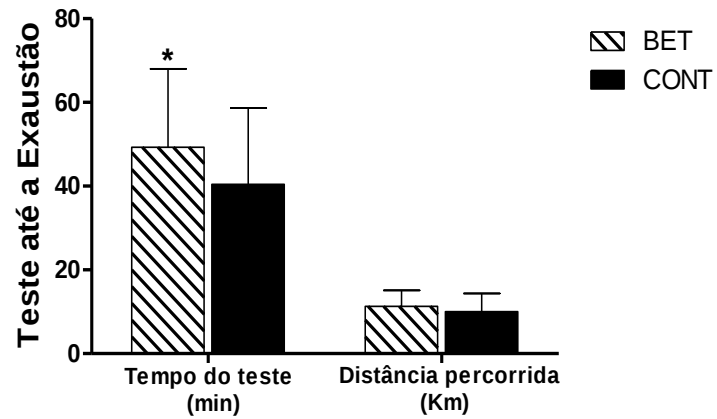
Legenda: CS: Coleta Sanguínea; FC: Frequência Cardíaca; PSE: Percepção Subjetiva de Esforço; VO₂ max: Volume de Oxigênio Máximo.

Figura 2: Concentração de nitrito após ingestão de suco de beterraba ou bebida controle. Dados são como média $\pm$ desvio padrão. Dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão da média. * indica diferença ($p < 0,05$) entre grupos no mesmo momento. # indica diferença ($p < 0,05$) intra-grupo em relação ao momento pré-suplementação. ANOVA two-way para medidas repetidas.



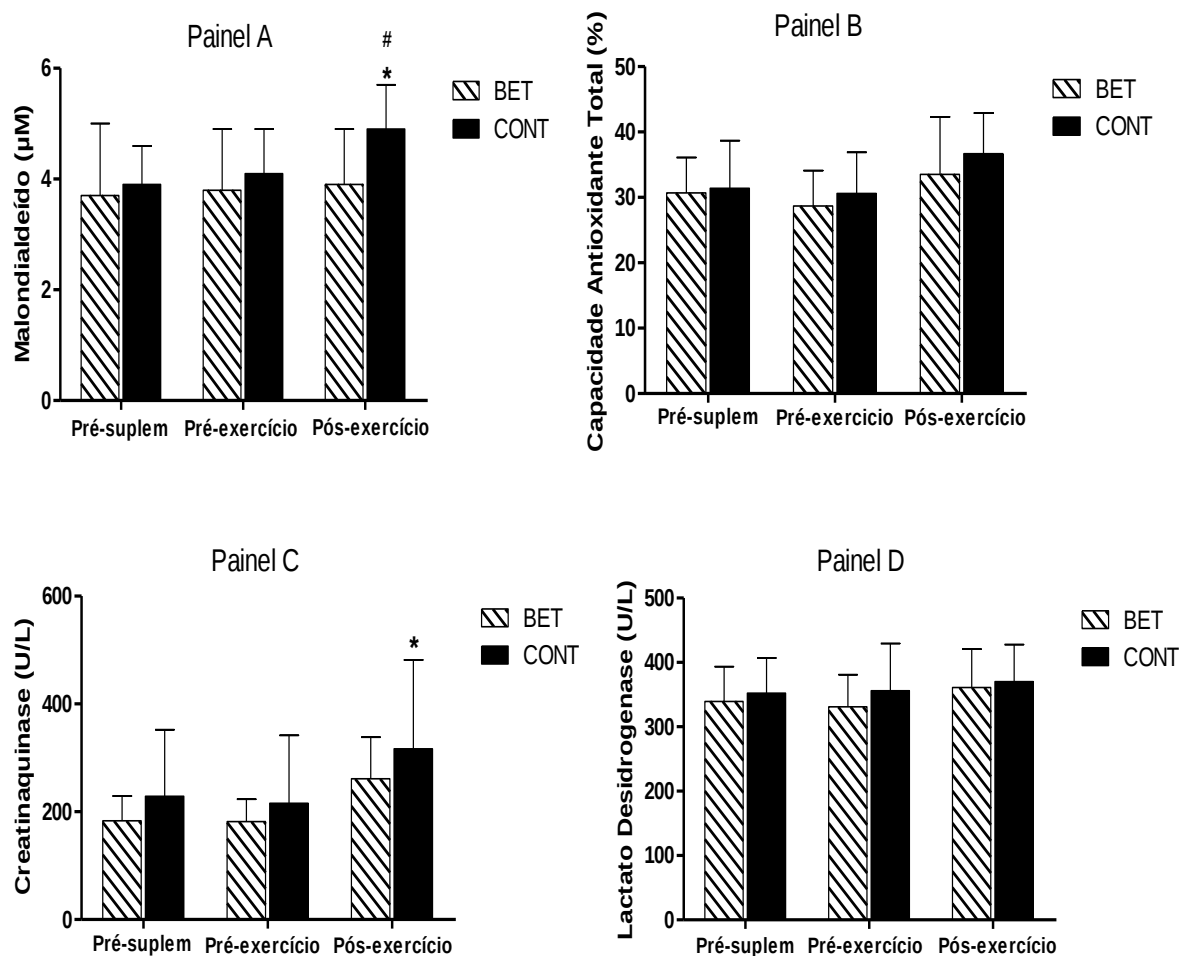
Legenda: BET: Suplementação com suco de beterraba, CONT: Suplementação com bebida controle.

Figura 3 – Desempenho no teste de corrida até a exaustão à 80% do VO₂ max após ingestão de suco de beterraba ou bebida controle. Dados são como média± desvio padrão. * indica diferença ($p<0,05$) entre grupos no mesmo momento. Teste T pareado.



Legenda: BET: Suplementação com suco de beterraba, CONT: Suplementação com bebida controle.

Figura 4: Estresse oxidativo (Painel A), resposta antioxidante (Painel B) e dano muscular (Painel C e D) induzido pelo teste de corrida até a exaustão à 80% do VO₂ max após ingestão de suco de beterraba ou bebida controle. Dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão da média. * indica diferença ($p < 0,05$) entre grupos no mesmo momento. # indica diferença ($p < 0,05$) intra-grupo em relação ao momento pré-suplementação. ANOVA two-way para medidas repetidas.



Legenda: BET: Suplementação com suco de beterraba, CONT: Suplementação com bebida controle.

Tabela 1: Informações nutricionais, compostos fenólicos, e atividade antioxidante do suco de Beterraba.

Quantidade por porção (140 mL)	
Fruta in natura (g)	500
Valor energético (kcal)	144
Carboidratos (g)	30
Açúcares (g)	28
Proteínas (g)	5,4
Gorduras totais (g)	0,1
Gorduras saturadas (g)	<0,1
Sódio (mg)	0,4
NO ₃ ⁻ (mg)	800
Quantidade por porção (70 mL)	
Compostos fenólicos	
Polifenóis totais (mg EAG/L)	977,2
Atividade Antioxidante	
FRAP (μMol/L)	997,1

FRAP = Poder antioxidante redutor de ferro. EAG = Equivalentes de ácido gálico. Dados de Wootton-Beard; Ryan (2011).

Tabela 2 - Características iniciais dos voluntários (n=10).

Características		M±DP	
Idade (anos)		42,1 ± 6,6	
IMC (kg/m ²)		22,5±0,8	
Gordura (%)		24,1±3,8	
FCR (bpm)		55,1 ± 14,6	
VO2máx (mL/kg/min)		55,4 ± 7,2	
Tempo de treinamento (anos)		12,1±8,5	
Frequência de treino (dias/semana)		5,2±0,9	
Volume semanal (km)		63,3±12,6	
Trabalho (horas/dia)		7, 4±1,1	
Sono (horas/dia)		7,1±0,5	
ESE-BR		4,4±2,5	
Parâmetros Bioquímicos	Suco de beterraba	Controle	P
Nitrito (μM)	12,9 ± 2,4	12,3 ± 3,6	0,63
MDA (μM)	3,7 ± 1,3	3,9 ± 0,7	0,28
CAT (%)	30,3 ± 5,7	31,4 ± 7,2	0,57
CK (U/L)	183,0 ± 46,1	228,9 ± 123,3	0,21
LDH (U/L)	339,4 ± 54,2	352,4 ± 54,4	0,50

IMC – índice de massa corporal; FCR - Frequência cardíaca de repouso; VO2máx: Volume de Oxigênio Máximo; ESS-BR – Epworth Sleepiness Scale – Brazil (BERTOLAZI et al. 2009);. MDA – malondialdeído; CAT – capacidade antioxidante total; CK – creatinoquinase; LDH – lactato desidrogenase. Dados estão apresentados como média± desvio padrão. ANOVA one-way.

Tabela 3 – Ingestão alimentar dos corredores recreacionais durante o estudo.

	Consumo Alimentar Diário	Recomendações¹
VET (kcal/kg)	40,9±9,7	50 – 80
CHO (g/kg)	5,9±1,6	5,0 – 8,0
PTN (g/kg)	1,8±0,4	1,4-2,0
LIP (g/kg)	1,1±0,5	0,5 – 1,0
VIT A (RE)	744,6±615,8	900
VIT C (mg)	193,8±202,9	90
VIT D (mg)	4,9±6,4	5,0
VIT E (mg)	7,7±2,8	15
Cobre (mcg)	4,3±6,1	900
Selênio (mcg)	78,1±30,0	55
Zinco (mg)	8,0±2,8	11
Manganês (mg)	182,4±58,5	400

VET: Valor Energético Total; CHO: carboidrato; PTN: proteína; LIP: lipídeos; VIT: vitaminas. ¹ Recomendações para atletas de acordo com as diretrizes da *International Society of Sports Nutrition* (ISSN, 2010). Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão da média.

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

TERMO DE COMPROMISSO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Esta pesquisa é sobre **OS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE BETERRABA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO, DESGASTE MUSCULAR E DESEMPENHO FÍSICO EM CORREDORES RECREACIONAIS** e está sendo desenvolvida por ANA CARLA LIMA DE FRANÇA, aluna do Curso de Pós-Graduação em Nutrição UFPB, sob a orientação do Prof. Dr. ALEXANDRE SÉRGIO SILVA. O objetivo é confirmar o efeito ergogênico mostrado em estudos prévios da ingestão de uma dose única de suco de beterraba sobre o desempenho de corredores, e avaliar se uma possível melhora do desempenho é acompanhada de menor estresse oxidativo e desgaste muscular durante sessão de corrida até a exaustão.

Solicitamos sua colaboração para realizar um teste de corrida até a exaustão em esteira ergométrica. Serão suplementados com 140 mL de suco de beterraba ou bebida controle 2 horas antes do teste até a exaustão. Frequência cardíaca será tomada a cada 10 minutos durante o exercício. Uma semana antes dos ensaios experimentais será realizado um teste 3.200m para determinação do VO₂ max. Antes de iniciar o treinamento de corrida passarão por um procedimento inicial onde serão coletadas informações de dados pessoais, clínicos e físicos (altura e peso). As coletas sanguíneas serão feitas em três momentos: antes da suplementação, duas horas após a suplementação e imediatamente após o teste até a exaustão, para posterior análise de marcadores de dano muscular creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH), de estresse oxidativo malondialdeído (MDA), capacidade antioxidante total (CAT) e nitrito. Todos esses procedimentos serão realizados no Laboratório de Estudos em Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e à Saúde, na UFPB.

Solicitamos a sua colaboração e autorização para coletar os dados necessários para esse estudo, assim como, apresentar os resultados obtidos em eventos da área de saúde e publicar em revistas científicas garantindo que seus dados pessoais serão mantidos em absoluto sigilo. Os procedimentos poderão oferecer possíveis riscos para o participante: na coleta sanguínea, pois existe o risco de serem formados pequenos edemas na região do antebraço onde a agulha será inserida. Para minimizar esse risco as coletas serão feitas sempre por enfermeiras treinadas e o laboratório que dispõe do suporte adequado, como por exemplo, gelo para aplicar na região e minimizar esses impactos. Os procedimentos poderão causar desconforto físico durante os testes de exaustão, no

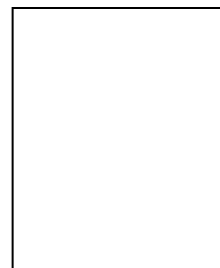
entanto, nada além da exposição de desconforto nos treinamentos diários e competições que já estão habituados. Entretanto, será utilizada uma escala de percepção de esforço para que avisem quando não suportarem mais as cargas do exercício. Existe ainda uma possibilidade de desconforto gastrointestinal devido à ingestão do suco de beterraba ou bebida controle, porém após a ingestão terão 2 horas para iniciar o teste, e caso ocorra um possível desconforto, os procedimentos serão cancelados.

Caso decida não participar do estudo ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição. Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Participante



Espaço para
impressão
dactiloscópica

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o (a) pesquisador.

Contato do Pesquisador Responsável: Ana Carla Lima de França. Telefone: (83) 98716-1037. E-mail: anacarlalimaf@hotmail.com.

Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley: Campus I, S/N - Cidade universitária - João Pessoa-PB CEP: 58050-000. ☎ (83) 3216-7791 – E-mail: eticaccsufpb@hotmail.com

APÊNDICE C – RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24 HORAS

RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24 HORAS

1º() 2º() 3º()

Nome: _____ Idade: _____

Data: ____ / ____ / ____

Refeição/horário	Preparação e/ou alimentos	Medida caseira	Quantidades (gramas/ml)	Observações
Desjejum				
Lanche				
Almoço				
Lanche				
Jantar				
Colação				
Suplementação				

APÊNDICE D – QUESTIONÁRIO DE DESCONFORTO GASTROINTESTINAL**1. Nessas duas semanas teve episódios de dor abdominal e desconforto intestinal?**

() não () algumas vezes (poucas) () frequentemente () muitas vezes

Se sim, em momentos específicos como:

1.1 logo após consumir a suplementação

1.2 durante o treino (devido a suplementação pré-treino)

1.3 logo após algum tempo de suplementação

2. Durante esse período, percebeu que o seu intestino passou a funcionar menos ou mais frequente do que o usual?

() sim _____ () não

3. Por vezes sente o estômago inchado (distensão abdominal)?

() sim () não

4. Nesse período você teve alguma diarreia, obstipação (prisão de ventre) ou gases?

() sim _____ () não

OUTRAS OBSERVAÇÕES:

ANEXOS

ANEXO A - DECLARAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIDÃO

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 11ª Reunião realizada no dia 07/12/2016, o Projeto de pesquisa intitulado: **“INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS DOS GENES ACTN3 E PPAR ALFA SOBRE A RECUPERAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO, DESGASTE MUSCULAR E DESEMPENHO FÍSICO PÓS EXERCÍCIO EM RESPOSTA À SUPLEMENTAÇÃO DO SUCO DE BETERRABA”**, do pesquisador Alexandre Sérgio Silva. Prot. nº 0640/16. CAAE: 59950416.6.0000.5188.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à apresentação do relatório final do estudo proposto à apreciação do Comitê.


Andrea Márcia da C. Lima
Mat. SIAPE 1117510
Secretária do CEP-CCS-UFPB

ANEXO B - ESCALA DE PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO DE BORG

<u>ESCALA DE PERCEPÇÃO DE ESFORÇO</u>		
6	7	MUITO FÁCIL
7		
8		
9	10	FÁCIL
10		
11	12	RELATIVAMENTE FÁCIL
12		
13	14	RELATIVAMENTE CANSATIVO
14		
15	16	CANSATIVO
16		
17	18	MUITO CANSATIVO
18		
19	20	EXAUSTIVO
20		

ANEXO C – QUESTIONÁRIO PROFILE OF MOOD STATES (POMS)

POMS Adaptação por Viana, Almeida e Santos, 2001																
NOME						DATA:										
Instruções: São apresentadas abaixo uma série de palavras que descrevem sensações que as pessoas sentem no dia-a-dia. Leia primeiro cada palavra com cuidado. Depois, assinale com uma cruz (X) a quadricula que melhor corresponda à forma como se tem sentido ao longo dos ÚLTIMOS SETE DIAS INCLUINDO O DIA DE HOJE.																
<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse; text-align: center; width: 150px;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Nada</td> <td style="padding: 5px;">Um pouco</td> <td style="padding: 5px;">Moderadamente</td> <td style="padding: 5px;">Bastante</td> <td style="padding: 5px;">Muitíssimo</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">0</td> <td style="padding: 5px;">1</td> <td style="padding: 5px;">2</td> <td style="padding: 5px;">3</td> <td style="padding: 5px;">4</td> </tr> </table> Não escreva nos espaços abaixo. Só para uso interno.							Nada	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Muitíssimo	0	1	2	3	4
Nada	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Muitíssimo												
0	1	2	3	4												
TDHVFC																
1	Tenso															
2	Irritado															
3	Imprestável															
4	Esgotado															
5	Animado															
6	Confuso															
7	Triste															
8	Activo															
9	Mal-humorado															
10	Enérgico															
11	Sem valor															
12	Inquieto															
13	Fatigado															
14	Aborrecido															
15	Desencorajado															
16	Nervoso															
17	Só															
18	Baralhado															
19	Exausto															
20	Ansioso															
21	Deprimido															
22	Sem energia															
23	Miserável															
24	Desnortado															
25	Furioso															
26	Eficaz															
27	Cheio de vida															
28	Com mau feitio															
29	Tranquilo															
30	Desanimado															
31	Impaciente															
32	Cheio de boa disposição															
33	Inútil															
34	Estourado															
35	Competente															
36	Culpado															
37	Enervado															
38	Infeliz															
39	Alegre															
40	Inseguro															
41	Cansado															
42	Apático															

ANEXO D – ESCALA DE SONOLÊNCIA DE EPWORTH (ESE-BR)

QUESTIONARIO DE AVALIAÇÃO DO SONO																																							
Nome:			Data:																																				
Qual a probabilidade de você cochilar ou dormir, e não apenas se sentir cansado, nas seguintes situações? Considere o modo de vida que você tem levado recentemente. Mesmo que você não tenha feito algumas dessas coisas recentemente, tente imaginar como elas o afetariam. Escolha o número mais apropriado para responder cada questão. <i>0 = nunca cochilaria</i> <i>1 = pequena probabilidade de cochilar</i> <i>2 = probabilidade média de cochilar</i> <i>3 = grande probabilidade de cochilar</i> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">Situação</th> <th colspan="4" style="text-align: center;">Probabilidade de Cochilar</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Sentado e lendo</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">3</td> </tr> <tr> <td>Assistindo TV</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">3</td> </tr> <tr> <td>Sentado quieto, em algum lugar público (ex.: teatro, reunião, palestra)</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">3</td> </tr> <tr> <td>Andando de carro por uma hora sem parar, como passageiro</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">3</td> </tr> <tr> <td>Sentado quieto, após um almoço sem bebida de álcool</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">3</td> </tr> <tr> <td>Em um carro parado no trânsito por alguns minutos</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">2</td> <td style="text-align: center;">3</td> </tr> </tbody> </table> Escala de sonolência de EPWORTH (ESS-BR) (Johns,1991)					Situação	Probabilidade de Cochilar				Sentado e lendo	0	1	2	3	Assistindo TV	0	1	2	3	Sentado quieto, em algum lugar público (ex.: teatro, reunião, palestra)	0	1	2	3	Andando de carro por uma hora sem parar, como passageiro	0	1	2	3	Sentado quieto, após um almoço sem bebida de álcool	0	1	2	3	Em um carro parado no trânsito por alguns minutos	0	1	2	3
Situação	Probabilidade de Cochilar																																						
Sentado e lendo	0	1	2	3																																			
Assistindo TV	0	1	2	3																																			
Sentado quieto, em algum lugar público (ex.: teatro, reunião, palestra)	0	1	2	3																																			
Andando de carro por uma hora sem parar, como passageiro	0	1	2	3																																			
Sentado quieto, após um almoço sem bebida de álcool	0	1	2	3																																			
Em um carro parado no trânsito por alguns minutos	0	1	2	3																																			
Quanto tempo você leva para adormecer após deitar? () menos de 10min () entre 10 e 30min () entre 30 e 60min () mais de 60min																																							
Quantas horas você costuma dormir por noite...																																							
nos dias de semana?																																							
nos dias de fim de semana?																																							
Quantas horas você costuma dormir durante o dia...																																							
nos dias de semana?																																							
nos dias de fim de semana?																																							
Essas horas são suficientes para descansar? () Sempre () Na maioria das vezes () Às vezes () Quase nunca () Nunca																																							