

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

LYDIANE DE LIMA TAVARES TOSCANO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE UVA TINTO SOBRE  
O DESEMPENHO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO DE  
CORREDORES E A INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS**

**João Pessoa**

**2019**

LYDIANE DE LIMA TAVARES TOSCANO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE UVA TINTO SOBRE O  
DESEMPENHO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO DE CORREDORES E A  
INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS**

**João Pessoa**

**2019**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

T713e Toscano, Lydiane de Lima Tavares.

EFETOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE UVA TINTO SOBRE O  
DESEMPENHO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO DE CORREDORES E  
A INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS / Lydiane de  
Lima Tavares Toscano. - João Pessoa, 2019.  
118 f. : il.

Orientação: Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves.  
Coorientação: Alexandre Sérgio Silva.  
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. uvas roxas. 2. alimento ergogênico. 3.  
antioxidantes. 4. nutrigenética. I. Gonçalves, Maria da  
Conceição Rodrigues. II. Silva, Alexandre Sérgio. III.  
Título.

UFPB/BC

LYDIANE DE LIMA TAVARES TOSCANO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE UVA TINTO SOBRE O  
DESEMPENHO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO DE CORREDORES E A  
INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS**

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

Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva

**João Pessoa**

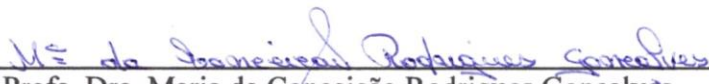
**2019**

**LYDIANE DE LIMA TAVARES TOSCANO**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE UVA TINTO SOBRE  
O DESEMPENHO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO DE  
CORREDORES E A INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS**

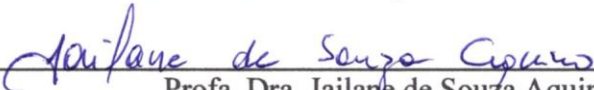
Tese \_\_\_\_\_ em \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / 2019.

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves  
Presidente da Banca Examinadora (DN/CCS/UFPB)

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

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Darlene Camati Persuhn  
Examinador Interno (DBM/CCEN/UFPB)

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Jailane de Souza Aquino  
Examinador Interno (DN/CCS/UFPB)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jose Luiz de Brito Alves  
Examinador Interno Suplente (DN/CCS/UFPB)

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Aline Telles Biasoto Marques  
Examinador Externo (Embrapa Semiárido/PE)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ferdinando Oliveira Carvalho  
Examinador Externo (CEFIS/ UNIVASF)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Naila Francis Paulo de Oliveira  
Examinador Externo Suplente (DBM/CCEN/UFPB)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a Deus, por ter me iluminado e nunca ter desistido de mim; aos meus pais e minhas irmãs, pelo amor e apoio incondicional; e ao meu marido pelo companheirismo e paciência.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que direciona o meu viver, e se faz presente lado a lado, mostrando o caminho que devo trilhar. Meu refúgio e amparo nos momentos de aflição. A Ele que me permitiu realizar esse sonho. Sem Ele nada disso seria possível.

Aos meus pais, Rosângela Tavares Toscano (*in memoriam*) e Tiburtino Toscano de Souza porque me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade. Pelo incentivo dado e por terem acreditado em mim em todos os momentos da minha vida. Mãe, que sempre foi exigente, sábia e forte, te guardo no coração eternamente. Pai, que ao longo desses 27 anos também passou a ser mãe, criando, educando e superando todas as barreiras por suas quatro filhas. Ele é a pessoa mais importante da minha vida. A você, que se doou por inteiro e renunciou sua vida para que, muitas vezes, eu pudesse realizar os meus sonhos. A base para meu crescimento pessoal e profissional. Sem vocês nada seria possível.

As minhas queridas irmãs Lúcia, Lygia e Luciana, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, apoiando e incentivando minha luta diária;

Ao meu marido João Ricardo, que esteve me apoiando em todos os momentos desde a graduação até hoje. Foi paciente, compreensivo, e sempre me incentivou a crescer profissionalmente;

Aos meus sogros e cunhadas pelo apoio em todos os momentos, sendo fundamentais para a conquista de mais uma etapa na minha vida.

Aos queridos amigos-irmãos Taize e Hugo, que mesmo quando estiveram longe nunca se esqueceram de me enviar mensagens de apoio e de força nas horas em que mais precisei. Sempre confiaram no meu potencial, mesmo eu desacreditando. Em especial, a minha princesa Lavínia, filha do coração, que conseguia renovar minhas forças a cada sorriso com tanto amor e carinho.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves por toda coragem em se aventurar em uma nova linha de pesquisa. Por ser essa pessoa tão atenciosa, amorosa, dedicada e paciente.

Ao meu coorientador (eterno orientador), Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva que acompanha minha luta acadêmica nesses quase 11 anos. Grata pela confiança em mim depositada, pela sabedoria ao conduzir este trabalho com tranquilidade e qualidade, pela paciência, dedicação e constantes incentivos. O senhor abriu portas para eu ser quem sou hoje.

À minha equipe “alimentos ergogênicos” (Bruno, Eder, Matheus, Ana Carla, Maria Paula, Rebeka, Terci) que contribuiu diretamente para a realização desta pesquisa e que participaram efetivamente na execução do trabalho para que este fosse concluído com sucesso. Em especial,

aos meus braços, Bruno Virginio e Eder Almeida-Filho que dedicaram seu tempo a me ajudar desde a triagem dos atletas até os dias de hoje.

À Klécia Sena, que além de ser minha amiga pessoal, foi uma grande parceira na pesquisa, sacrificando seus finais de semana/ feriados para ajudar nas análises genéticas.

À nossa querida enfermeira Milena que tanto nos ajudou. Um anjo que entrou no nosso laboratório para somar e fazer acontecer. Antes de ser uma profissional exemplar, é uma pessoa de coração grande.

Às professoras Darlene e Naila, por toda atenção, paciência e cuidado que tiveram conosco ao longo dessa caminhada. São seres de luz. À Mayara, que ajudou nas preparações, extrações de DNA e na interpretação dos resultados. Não tenho como expressar tamanha gratidão pelos conhecimentos adquiridos.

Aos professores Lucindo e Juliana, além dos seus alunos do laboratório de Neurociências (LANEF) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), em especial a pós-doutoranda Luana, que nos acompanhou e realizou as análises de estresse oxidativo e Mateus Duarte que intermediou esse contato para que as análises pudessem ser realizadas.

Ao doutor Valério, por sua disponibilidade, apoio e acompanhamento nos testes de ergoespirometria. E aos colegas Douglas e Ana Paula que acompanharam essa etapa de perto, tornando possível a realização.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Semiárido/Petrolina/PE), pela realização das análises físico-químicas e de quantificação dos compostos fenólicos. Em especial a pesquisadora Dra. Aline Biasoto e sua aluna Darcylene por toda sua dedicação e boa vontade em nos ajudar, desde permitir os contatos com as vinícolas até as análises dos produtos.

Ao Instituto Brasileiro de Vinho (IBRAVIN) pela parceria e doação de parte do suco de uva tinto utilizado nesta pesquisa. Juntamente com o Governo do Estado do Rio Grande do Sul, com recursos provenientes da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul.

Aos grupos de corrida de João Pessoa, por permitirem a realização da coleta de dados; e aos corredores pela aceitação, disponibilidade paciência e dedicação à pesquisa.

À 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.

Aos membros e ex-membros do laboratório LETFADS, pela convivência durante esses quase 11 anos, pelos momentos de aprendizado, estresses, alegrias e pelos cafezinhos infindáveis. Uma história que guardarei e levarei comigo para sempre.

Aos membros da banca, que aceitaram o convite, e contribuíram grandiosamente com o trabalho.

“Temos que fazer o melhor que podemos. Esta é a nossa  
sagrada responsabilidade humana”.

*Albert Einstein*

## RESUMO

Estudos recentes têm demonstrado a capacidade ergogênica do suco de uva tinto pela melhoria do desempenho físico e da atividade antioxidante em atletas recreacionais. Entretanto, as respostas à suplementação são divergentes, pois uma minoria de atletas não responde a intervenção, e nos responsivos há uma grande variabilidade na magnitude das respostas ao desempenho físico. Uma perspectiva para esclarecer esta variabilidade é a avaliação de polimorfismos genéticos. Nesse sentido, o presente estudo investigou se os polimorfismos SOD3 Arg213Gli, PPAR $\alpha$  7G/C e ACTN3 R577X influenciam nos efeitos da suplementação crônica com suco de uva tinto sobre o desempenho físico e balanço redox, em corredores recreacionais. Adicionalmente, investigar os efeitos de uma única dose de suco perante desempenho físico, estresse oxidativo, inflamação e desgaste muscular. Para os efeitos crônicos e a influência dos polimorfismos realizou-se um ensaio clínico-controlado com 30 homens corredores ( $34 \pm 1$  anos;  $VO_{2pico}$ :  $50,8 \pm 1$  ml/kg/min) suplementados com suco de uva (10 ml/kg/dia) e 10 ingeriram bebida controle ( $35 \pm 2$  anos;  $VO_{2pico}$ :  $50,0 \pm 2,2$  ml/kg/min) por 28 dias. Coletas sanguíneas foram realizadas no momento basal e 48 horas após o 28º dia de suplementação. Os parâmetros avaliados foram tempo de exaustão na corrida, capacidade antioxidante total (CAOT), superóxido dismutase (SOD), carbonilação de proteínas e malondialdeído (MDA), além dos polimorfismos genéticos SOD3 Arg213Gli, PPAR $\alpha$  7G/C e ACTN3 R577X. Enquanto para os efeitos de uma única dose, realizou-se ensaio clínico, randomizado, duplo-cego e placebo-controlado com 14 homens corredores recreacionais ( $39 \pm 9$  anos;  $VO_{2pico} = 55,9 \pm 6,5$  ml.kg.min) randomizados para suco de uva e bebida placebo (10 ml /kg/dia). Sangue foi coletado, antes da suplementação, duas horas pós-suplementação, e imediatamente após o teste de exaustão. Foram avaliados tempo de exaustão, CAOT, MDA, creatinaquinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), alfa-1-glicoproteína ácida (A1GPA) e proteína-C reativa ultrasensível (PCR-us). Adicionalmente avaliou-se estado nutricional, cargas de treino, comportamento psicométrico, sono e descanso/recuperação, para ambos os ensaios. Observou-se para doses múltiplas de suco, independente da genotipagem, melhorou o tempo de exaustão ( $9,2 \pm 2,6$  minutos;  $p=0,02$ ). Porém, atletas com genótipo GG do PPAR $\alpha$  tiveram piora do tempo ( $-0,3 \pm 1,8$  minutos), enquanto atletas do grupo CC/ CG aumentaram  $8,7 \pm 6,0$  minutos ( $p=0,02$ ), sem modificações para estresse oxidativo. O gene da SOD3 revelou apenas uma tendência de melhor desempenho para o genótipo CC ( $p=0,06$ ), com menor carbonilação para CC e menor MDA para o grupo GG/ GC. Dose única do suco de uva aumentou o tempo de corrida até a exaustão ( $\uparrow 18,7\%$ ;  $p=0,008$ ) e a CAOT ( $\uparrow 43,6\%$ ;  $p=0,000$ ) no momento pós-exercício. MDA, A1GPA, PCR-us, CK, e LDH não apresentaram modificação. Conclui-se que o suco de uva apresenta efeitos ergogênicos tanto para múltiplas doses como para dose única. Adicionalmente acompanhada de aumento da proteção antioxidante agudamente, enquanto várias doses mostrou uma tendência consistente para CAOT e SOD. Os achados confirmam a variabilidade das respostas e apontam que atletas com genótipo GG não obtiveram os efeitos ergogênicos do suco no teste de exaustão, indicando que a nutrigenética merece ser considerada para o desempenho esportivo.

**Palavras-chave:** uvas roxas, alimento ergogênico, antioxidantes, nutrigenética.

## ABSTRACT

Recent studies have demonstrated the ergogenic capacity of purple grape juice by improving physical performance and antioxidant activity in recreational athletes. However, responses to supplementation are divergent, as a minority of athletes do not respond to intervention, and responsive individuals have a large variability in the magnitude of responses related to physical performance. One perspective to clarify this variability is the evaluation of genetic polymorphisms. Thus, the present study investigated whether the SOD3 Arg213Gly, PPAR $\alpha$  7G/C and ACTN3 R577X polymorphisms influence the effects of chronic purple grape juice supplementation on physical performance and redox balance in recreational runners. Additionally, investigated the effects of a single dose of juice on physical performance, oxidative stress, inflammation and muscle damage. For the chronic effects and the influence of the polymorphisms, a clinical-controlled trial was conducted with 30 runners ( $34 \pm 1$  years;  $VO_{2peak}$ :  $50.8 \pm 1$  ml/ kg/ min) supplemented with grape juice (10ml/ kg/ day) and 10 ingested a control drink ( $35 \pm 2$  years;  $VO_{2peak}$ :  $50.0 \pm 2.2$  ml / kg / min) for 28 days. Blood samples were collected at baseline and 48 hours after the 28th day of supplementation. The parameters evaluated were running time, total antioxidant capacity (TAC), superoxide dismutase (SOD), protein carbonylation and malondialdehyde (MDA), as well as genetic polymorphisms SOD3 Arg213Gly, PPAR $\alpha$  7G / C and ACTN3 R577X. While for the effects of a single dose, a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial was conducted with 14 recreational male runners ( $39 \pm 9$  years;  $VO_{2peak}$  =  $55.9 \pm 6.5$  ml.kg.min) randomized to grape juice and placebo drink (10ml/ kg/ day). Blood was collected, before supplementation, two hours after supplementation, and immediately after the exhaustion test. Exhaustion time, TAC, MDA, creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), alpha-1-acid glycoprotein (A1AGP) and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) were evaluated. Additionally, nutritional status, training loads, psychometric behavior, sleep and rest/ recovery were evaluated for both trials. It was observed for multiple doses of juice, regardless of genotyping, improved exhaustion time ( $9.2 \pm 2.6$  minutes;  $p = 0.02$ ). However, athletes with PPAR $\alpha$  GG allele had time decreased ( $-0.3 \pm 1.8$  minutes), while athletes with C allele increased  $8.7 \pm 6.0$  minutes ( $p = 0.02$ ), without changes to oxidative stress. The SOD3 gene revealed only a better performance trend for CC allele ( $p = 0.06$ ), with lower carbonylation for CC and lower MDA for G allele. Single dose of juice increased run time to exhaustion (18.7%;  $p = 0.008$ ) and increased TAC (43.6%;  $p = 0.000$ ) post-exercise. MDA, A1GPA, hs-PCR, CK, and LDH did not change. It is concluded that grape juice has ergogenic effects for both multiple and single doses. Additionally, accompanied by acute increased antioxidant protection, while multiple doses showed a consistent tendency for TAC and SOD. Our findings confirm the variability of responses and indicate that athletes with GG genotype did not obtain the ergogenic effects of grape juice in the running test to exhaustion, indicating that nutrigenetics is a variable that deserves to be considered for sports performance.

**Keywords:** purple grape, ergogenic food, antioxidants, nutrigenetics.

## LISTA DE FIGURAS

### FIGURAS DA TESE

|                 |                                                                                                                                                        |    |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> | Organograma do perfil fenólico presente nas uvas tintas produzidas no Brasil                                                                           | 20 |
| <b>Figura 2</b> | Esquema conceitual sobre nutrigenética.                                                                                                                | 37 |
| <b>Figura 3</b> | Localização celular das isoformas de superóxido dismutase (SOD).                                                                                       | 38 |
| <b>Figura 4</b> | Organização genômica dos três genes conhecidos da enzimas SOD em humanos.                                                                              | 39 |
| <b>Figura 5</b> | Desenho experimental do estudo agudo.                                                                                                                  | 42 |
| <b>Figura 6</b> | Desenho experimental do estudo crônico.                                                                                                                | 43 |
| <b>Figura 7</b> | Gel de poliacrilamida a 15%, corado em nitrato de prata. Amostras do genótipo de alguns atletas, para ACTN3 R577X, após de digestão enzimática (DdeI). | 45 |

### FIGURAS DO ARTIGO 1

|                 |                                                                                             |    |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> | Fluxograma CONSORT                                                                          | 82 |
| <b>Figura 2</b> | Desenho do estudo experimental                                                              | 82 |
| <b>Figura 3</b> | Efeitos do suco de uva tinto integral sobre o desempenho no teste de corrida.               | 85 |
| <b>Figura 4</b> | Efeito do suco de uva tinto integral sobre biomarcadores de estresse oxidativo.             | 85 |
| <b>Figura 5</b> | Efeito do suco de uva tinto integral sobre biomarcadores de inflamação e desgaste muscular. | 86 |

### FIGURAS DO ARTIGO 2

|                 |                                                                                                                                                                            |     |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 1</b> | Desenho experimental do estudo.                                                                                                                                            | 109 |
| <b>Figura 2</b> | Desempenho físico de corredores recreacionais após 28 dias de ingestão de bebida controle ou suplementação com suco de uva tinto integral                                  | 112 |
| <b>Figura 3</b> | Desempenho físico de corredores recreacionais após 28 dias de suplementação com suco de uva tinto integral, de acordo com os genótipos para os genes SOD 3 e PPAR $\alpha$ | 113 |

## LISTA DE TABELAS

### TABELAS DA TESE

|                 |                                                                                                                                    |    |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> | Características antioxidantes dos sucos de uva e da bebida placebo utilizados para a suplementação nos protocolos agudo e crônico. | 51 |
| <b>Tabela 2</b> | Quantificação dos compostos fenólicos em miligramas/litro (mg/L) nos sucos de uva e bebida placebo.                                | 52 |

### TABELAS DO ARTIGO 1

|                 |                                                                                                                                                           |    |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> | Atividade antioxidante do suco de uva tinto integral e da bebida placebo.                                                                                 | 83 |
| <b>Tabela 2</b> | Características basais dos corredores.                                                                                                                    | 83 |
| <b>Tabela 3</b> | Características psicométricas, de sono e recuperação, marcadores bioquímicos e estado nutricional dos corredores, no dia dos procedimentos experimentais. | 84 |

### TABELAS DO ARTIGO 2

|                 |                                                                                                                                                                                                                  |     |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 1</b> | Características antioxidantes do suco de uva tinto integral.                                                                                                                                                     | 110 |
| <b>Tabela 2</b> | Características basais dos atletas dos grupos controle, experimental e experimental genotipado.                                                                                                                  | 110 |
| <b>Tabela 3</b> | Consumo alimentar, características psicométricas, qualidade do sono e recuperação dos atletas dos grupos controle, experimental e experimental genotipado.                                                       | 111 |
| <b>Tabela 4</b> | Efeitos da suplementação com suco de uva sobre o balanço redox de corredores recreacionais.                                                                                                                      | 114 |
| <b>Tabela 5</b> | Efeitos da suplementação com suco de uva sobre o balanço redox de corredores recreacionais agrupados de acordo com as características genéticas para os polimorfismos SOD3 Arg213Gln (C/G) e PPAR $\alpha$ 7C/G. | 114 |

## LISTA DE QUADROS

### QUADROS DA TESE

|                 |                                                                                                                                                         |    |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Quadro 1</b> | Estudos sobre suplementação com produtos derivados das uvas tintas e os possíveis efeitos ergogênicos no exercício físico.                              | 24 |
| <b>Quadro 2</b> | Influência nutrigenética em resposta ao efeito ergogênico de suplementação.                                                                             | 36 |
| <b>Quadro 3</b> | Sequência de iniciadores <i>sense</i> e <i>antisense</i> e amplificação por PCR para os polimorfismos SOD3 Arg213Gli, PPAR $\alpha$ 7G/C e ACTN3 R577X. | 44 |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                          |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                                 | <b>16</b> |
| <b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>                                                                                        | <b>19</b> |
| 2.1 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL.....                                                           | 19        |
| 2.1.1 Possibilidades ergogênicas do suco de uva para o atleta.....                                                       | 21        |
| 2.2 ASPECTOS GENÉTICOS.....                                                                                              | 30        |
| 2.2.1 Polimorfismos genéticos associados ao desempenho atlético e as diferentes respostas à suplementação esportiva..... | 30        |
| 2.2.2 Influência do polimorfismo Arg213Gli no gene SOD3 associado ao estresse oxidativo.....                             | 37        |
| <b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                                                                                       | <b>40</b> |
| 3.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA.....                                                                                             | 40        |
| 3.2 DESENHOS EXPERIMENTAIS DOS ESTUDOS.....                                                                              | 41        |
| 3.2.1 Desenho dos procedimentos experimentais agudos.....                                                                | 41        |
| 3.2.2 Desenho dos procedimentos experimentais crônicos.....                                                              | 42        |
| 3.3 AVALIAÇÃO GENÉTICA.....                                                                                              | 43        |
| 3.3.1. Extração de DNA da mucosa bucal e genotipagem.....                                                                | 43        |
| 3.3.2 Genotipagem dos polimorfismos SOD3 Arg213Gli, PPAR $\alpha$ 7G/C e ACTN3 R577X.....                                | 44        |
| 3.4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL.....                                                                                           | 46        |
| 3.4.1 Composição Corporal.....                                                                                           | 46        |
| 3.4.2 Consumo Alimentar.....                                                                                             | 47        |
| 3.5 COLETA SANGUÍNEA E ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....                                                                         | 47        |
| 3.6 PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO E TESTES DE DESEMPENHO FÍSICO.....                                                           | 48        |
| 3.7 CARACTERIZAÇÃO DAS BEBIDAS E PROTOCOLOS DE SUPLEMENTAÇÃO....                                                         | 50        |
| 3.7.1 Protocolo de suplementação aguda.....                                                                              | 53        |
| 3.7.2 Protocolo de suplementação crônica.....                                                                            | 53        |
| 3.8 AVALIAÇÃO SUBJETIVA DE ESTRESSE, RECUPERAÇÃO, SONO/DESCANSO.....                                                     | 54        |

|                                                              |            |
|--------------------------------------------------------------|------------|
| 3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....                                 | 54         |
| <b>4 RESULTADOS.....</b>                                     | <b>56</b>  |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                      | <b>57</b>  |
| <b>APÊNDICE A – ARTIGO 1.....</b>                            | <b>67</b>  |
| <b>APÊNDICE B – ARTIGO 2.....</b>                            | <b>87</b>  |
| <b>APÊNDICE C – OUTROS RESULTADOS.....</b>                   | <b>115</b> |
| <b>ANEXO A – CERTIDÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA.....</b> | <b>118</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

As últimas décadas têm sido marcadas por uma forte inserção de suplementos alimentares no mundo esportivo. No entanto, este fenômeno é acompanhado por fortes controvérsias acerca da eficácia e segurança dos produtos utilizados (KREIDER et al., 2010; SILVA et al. 2014). Por outro lado, os anos recentes têm demonstrado que diversos alimentos processados ou *in natura*, em especial frutas como pequi (MIRANDA-VILELA et al., 2009), cereja (HOWATSON et al. 2010) e groselha (BRAAKHUIS; HOPKINS; LOWE, 2013) desempenham atividade ergogênica similar à dos suplementos esportivos. Estes alimentos são potencialmente antioxidantes e anti-inflamatórios e, por isso desempenham papel importante na recuperação entre as sessões de treino dos atletas e até mesmo o efeito diretamente ergogênico, melhorando o desempenho de atletas (MIRANDA-VILELA et al., 2009; TSITSIMPIKOU et al., 2013; TOSCANO et al. 2015).

Nessa perspectiva, as uvas tintas apresentam propriedades que lhes conferem um diferenciado status antioxidante e anti-inflamatório quando comparado com outros alimentos. A rica composição em compostos polifenólicos como as antocianidinas, catequinas e resveratrol, atribui às uvas tintas e às bebidas derivadas essas propriedades (GIOVINAZZO; GRIECO, 2015; RASINES-PEREA; TEISSEDRE, 2017). Além disso, as uvas se diferenciam por apresentar grande concentração de polifenóis desde a camada epidérmica da baga até as sementes, tendo assim um total aproveitamento dos constituintes bioativos (GEORGIEV; ANANGA; TSOLOVA, 2014).

Em estudos com modelo animal pode-se observar que produtos derivados das uvas como extrato das folhas da uva (MINEGISHI et al. 2011), vinho tinto (DAL-ROS et al. 2011), extrato de semente da uva (BELVIRANLI et al. 2012), bagaço da uva (VESKOUKIS et al. 2012) e o suco de uva tinto (DALLA CORTE et al. 2013) foram capazes de melhorar o balanço redox. Nos estudos realizados por Minegishi et al. (2011) e Belviranli et al. (2012), observou-se adicionalmente, uma redução do desgaste muscular provocado por treinamentos exaustivos em ratos. Mais recentemente, Xianchu et al. (2018) observaram o aumento do tempo de exercício até a exaustão, acompanhado de proteção anti-inflamatória, anti-fadiga, antioxidante e melhoria da atividade mitocondrial.

Estes estudos prévios ainda são limitados por terem sido realizados em modelo animal. Entretanto, em 2009, Lafay et al. confirmaram pela primeira vez em atletas jogadores de handebol o aumento de 20% no desempenho físico após 30 dias de suplementação com extrato de uvas, sendo essa melhoria da performance física conferida ao aumento da

capacidade antioxidante e redução do desgaste muscular. Mais recentemente, nosso laboratório, confirmou em atletas corredores, este efeito ergogênico, no qual foi observada a melhoria de 15% no desempenho físico específico da corrida, acompanhada do aumento da atividade antioxidante e redução de um marcador inflamatório após ingerirem 10 ml/kg/dia de suco de uva tinto durante 28 dias consecutivos (TOSCANO et al. 2015). Foi observado, entretanto, que as respostas à suplementação foram divergentes entre os atletas, pois uma minoria não respondeu a esta intervenção e as magnitudes individuais variaram bastante na maioria dos que responderam com aumento do desempenho físico. Esta variabilidade é algo comum em outros estudos nos quais procedimentos nutricionais foram testados (MIRANDA-VILELA et al., 2009; RIBEIRO et al., 2013; LIFANOV et al., 2014a; 2014b).

Uma perspectiva para esclarecer essa variabilidade em resposta à suplementação tem sido apresentada pela literatura a partir de polimorfismos genéticos (CHO et al., 2014; CAVALCANTE et al, 2015). No âmbito da nutrição esportiva, este fenômeno foi observado por Womack et al. (2012) verificaram que homozigotos AA do gene CYP1A2 reduziram o tempo em um teste de distância em 4,9% maior quando comparados aos portadores do alelo C ( $\uparrow$ 1,8%). Ribeiro et al., (2013) observaram que corredores suplementados com óleo de pequi apresentaram uma vantagem aeróbia para o genótipo TG do polimorfismo EPO T/G e maior redução de biomarcadores de desgaste muscular para o genótipo XX do polimorfismo ACTN3 R577X. Lifanov et al., (2014a) demonstraram que jogadores de futebol suplementados com creatina apresentaram vantagem aeróbia e menor acúmulo de lactato para o genótipo CT do gene AMPD1. Lifanov et al., (2014b) suplementaram corredores com glutatona e observaram melhores respostas para capacidade aeróbia e atividade antioxidante no genótipo GPX1 Pro, do polimorfismo Pro198Leu do gene GPX1. Neste sentido, a literatura corrobora que as variantes ou polimorfismos genéticos influenciam na magnitude da resposta à suplementação nutricional (processo nutrigenético).

Com relação às uvas, a atividade antioxidante é um dos seus efeitos mais importantes, devido à rica composição em polifenóis. Dentre os variantes genéticos, os genes envolvidos na proteção antioxidantes como Superóxidos Dismutases (SODs) e Catalase (CAT) podem levar à regulação da atividade antioxidante enzimática e evitar/ minimizar os danos celulares causados por altos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ZHANG et al., 2011). Portanto, variações genéticas entre enzimas que protegem a célula podem modular o risco do estresse oxidativo aumentado em resposta ao exercício. Entre os genes associados ao desempenho esportivo o PPAR $\alpha$  é responsável por regular a atividade oxidativa e glicolítica dos músculos esqueléticos de corredores fundistas (RUSSEL et al., 2003; AHMETOV et al.,

2006). Assim como o PPAR $\alpha$ , o gene ACTN3, embora não esteja relacionado a algum mecanismo do suco da uva, este é o gene mais estudado no âmbito esportivo e está fortemente associado ao desempenho físico de atletas (AHMETOV et al., 2009; JACOB et al, 2018). Deste modo, os polimorfismos nestes genes podem influenciar na resposta à suplementação com suco de uva sobre o desempenho esportivo e o balanço redox.

A despeito destas possibilidades nutrigenéticas, a variabilidade da resposta ergogênica individual condicionada por polimorfismo genético ainda não foi investigada para a suplementação de suco de uva em atletas corredores.

Para sanar as lacunas envolvidas com a suplementação com suco de uva, o presente estudo teve como objetivo geral investigar a participação dos polimorfismos SOD3 Arg213Gli, PPAR $\alpha$  7G/C e ACTN3 R577X nos efeitos da suplementação com suco de uva tinto sobre o desempenho físico, estresse oxidativo e desgaste muscular em corredores recreacionais. Adicionalmente, investigar os efeitos da ingestão aguda do suco de uva perante desempenho físico, estresse oxidativo, inflamação e desgaste muscular. Como objetivos específicos:

- Categorizar os atletas quanto aos genótipos de SOD3 Arg213Gli, PPAR $\alpha$  7G/C e ACTN3 R577X;
- Relacionar os efeitos da suplementação por 28 dias com suco de uva tinto, sobre o desempenho físico, com o genótipo PPAR $\alpha$  7G/C e ACTN3 R577X.
- Relacionar o efeito da suplementação por 28 dias com suco de uva tinto, sobre o desempenho físico, com os genótipos SOD3 Arg213Gli, relacionado a atividade antioxidante.
- Relacionar o efeito da suplementação por 28 dias com suco de uva tinto, sobre os marcadores de estresse oxidativo com o genótipo SOD3 Arg213Gli.
- Verificar a atividade antioxidante do suco de uva *in vitro* sobre os efeitos no balanço redox plasmático de corredores suplementados com uma única dose de suco;
- Demonstrar a relação dos biomarcadores plasmáticos e o tempo de corrida até a exaustão, em corredores suplementados com uma única dose de suco de uva tinto.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL

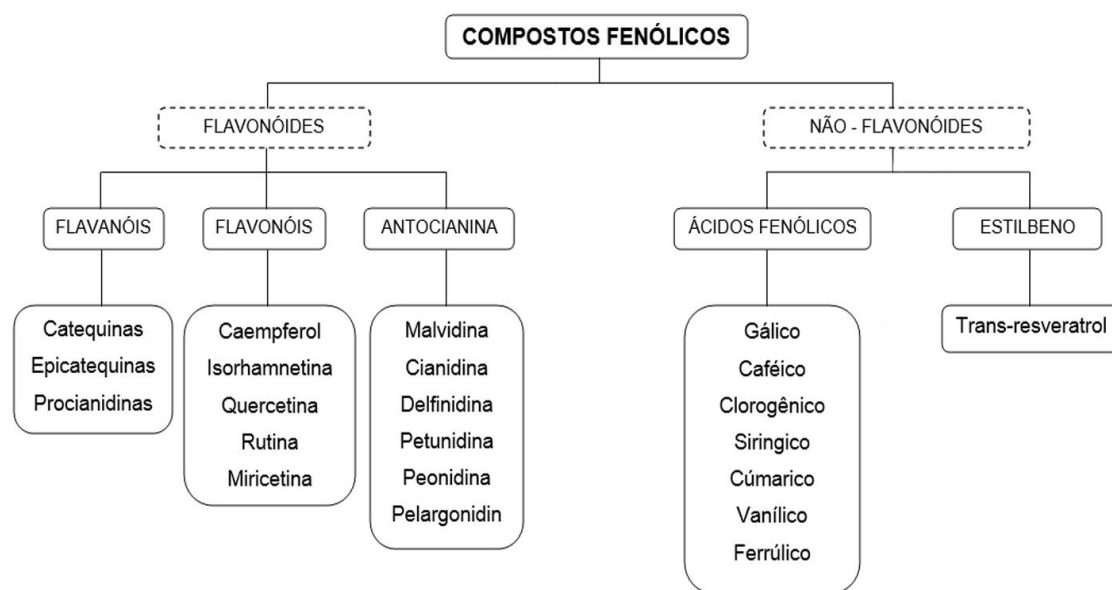
A uva e seus derivados são produtos consumidos em todo o mundo (DANI et al., 2007; International Organisation of Vine and Wine - OIV, 2014), além de muito versátil, uma vez que pode ser consumida *in natura*, em forma de suco, extratos, farinha, óleo e principalmente na forma de vinho (ALI et al., 2010; GEORGIEV; ANANGA; TSOLOVA, 2014). O Brasil apresentou um aumento expressivo na produção de suco de uva integral, de 33,6 para 52,2 milhões de litros por ano entre 2013 e 2015, segundo a União Brasileira de Vitivinicultura (UVIBRA) e o Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN) (MELLO, 2014). Enquanto isso, a EMBRAPA UVA e VINHO (MELLO, 2018) indicou um crescimento de 100% na produção de suco de uva integral no Brasil nos últimos cinco anos, e explica que a mudança de comportamento do consumidor em busca de uma alimentação saudável, estimulada pela divulgação das pesquisas científicas, foram os principais motivos para este crescimento.

São produtos que apresentam um importante valor nutricional devido à riqueza em polifenóis (GEORGIEV; ANANGA; TSOLOVA, 2014). Dentre estes, há uma grande variedade, tais como os flavonoides (flavanois, flavonois e antocianinas) e os não-flavonoides (ácidos fenólicos e estilbeno) (ALI et al., 2010; FLAMINI et al., 2013). Os sucos de uva brasileiros são elaborados principalmente a partir das uvas *Vitis labrusca*, e entre as cultivares mais empregadas na elaboração destacam-se a Concord, Isabel e Bordô (DANI et al., 2007; EMBRAPA, 2017). Na figura 1 podem ser vistos os compostos antioxidantes das categorias de fenólicos presentes em uvas brasileiras.

As antocianinas, os flavonois e o resveratrol são os principais componentes funcionais responsáveis pela atividade biológica da uva (LI; SUN, 2017). As antocianinas constituem a maior porcentagem de compostos fenólicos, representando um constituinte importante por contribuir com as características sensoriais e, principalmente, a coloração (ABE et al., 2007).

Os compostos polifenólicos estão presentes em todas as partes das uvas, porém em diferentes proporções. Dentre eles Segundo Pastrana-Bonilla et al., (2003), Xia et al. (2010) e Özcan et al. (2017) a maior atividade antioxidante foi encontrada nas sementes das uvas, seguido pela pele, e a polpa que apresentou a menor quantidade de antioxidantes.

**Figura 1** – Organograma do perfil fenólico presente nas uvas tintas produzidas no Brasil.



Fonte: Toscano, 2015.

Segundo a EMBRAPA, diferente dos vinhos, o suco é uma bebida não fermentada e não alcoólica, pois é elaborado a partir dos processos de aquecimento e pasteurização (RIZZON; MENEGUZZO, 2007). O aquecimento é feito com a uva inteira (polpa, casca e semente), o que resulta na maior incorporação dos compostos bioativos presentes em todas as partes da fruta (FULEKI; RICARDO, 2003). Isto explica resultados de estudos que demonstram uma grande concentração de compostos fenólicos no suco de uva tinto (ZHANG et al., 2017).

Estudos recentes têm demonstrado que o suco de uva integral expressa uma ação antioxidante importante ao organismo humano. Essa atividade foi demonstrada tanto em humanos saudáveis (GONÇALVES et al., 2011; TOALDO et al., 2016; TOSCANO et al., 2017) como em enfermos ou com complicações metabólicas (CHO et al., 2014; JANIQUES et al., 2014). Dentre os efeitos já investigados, observou-se a ação anti-inflamatória (KHADEM-ANSARI; RASMI; RAMEZANI, 2010; KRIKORIAN et al., 2010; TOSCANO et al., 2015), redução da pressão arterial sistólica (MIRANDA NETO et al., 2017; TOSCANO et al., 2017), redução do LDL-c e aumento do HDL-c (KHADEM-ANSARI; RASMI; RAMEZANI, 2010; TOSCANO et al., 2017), melhoria da densidade capilar (GONÇALVES et al., 2011) e ação neuroprotetora (KRIKORIAN et al., 2010; 2012).

### 2.1.1 Possibilidades ergogênicas das uvas e derivados para atletas

Considerando a reconhecida capacidade antioxidante e anti-inflamatória das uvas roxas e derivados, em pessoas com enfermidades cardiometabólicas (GEORGIEV; ANANGA; TSOLOVA, 2014), é possível hipotetizar que o suco de uva seja capaz de minimizar ou até mesmo inibir a produção de espécies reativas e a inflamação induzida pelo exercício físico extenuante, além de melhorar o desempenho físico. Uma síntese dos estudos até então realizados para testar esta hipótese está apresentada no Quadro 1.

Nos estudos com modelo animal avaliou-se o efeito de produtos ou subprodutos derivados das uvas tintas sobre o estresse oxidativo, inflamação, desgaste muscular e desempenho físico. Minegishi et al. (2011) demonstraram que a suplementação de extrato das folhas de uvas tintas durante 10 semanas melhorou a capacidade de resistência na natação, reduziu as concentrações de lactato plasmático pós-exercício e aumentou a oxidação de ácidos graxos no músculo esquelético em camundongos machos. Enquanto isso, Dal-Ros et al. (2011) demonstraram que a ingestão crônica de vinho tinto preveniu a disfunção endotelial, estresse oxidativo, a expressão das proteínas e o declínio do desempenho físico induzidos pelo processo de envelhecimento em ratos idosos.

Belviranli et al. (2012) avaliaram a suplementação aguda e crônica de extrato da semente de uva (100 mg/kg de peso) em ratos *Sprague–Dawley* machos adultos. Os animais foram submetidos a uma sessão de exercício exaustivo de corrida e observaram que houve uma maior expressão das enzimas oxidantes, menor atividade enzimática antioxidante, sem alterações na produção de óxido nítrico e no desempenho. Após seis semanas de suplementação, eles apresentaram menor peroxidação lipídica, mantendo as concentrações de outras enzimas oxidantes, maior síntese de óxido nítrico e de enzimas antioxidantes. Entretanto, o tempo de corrida até a exaustão não se modificou.

Veskoukis et al. (2012) testaram uma dose (300 mg/kg<sup>-1</sup>) do extrato do bagaço da uva em ratos Wistar machos uma hora antes de um exercício de natação e observaram que, *in vitro* houve uma ação antioxidante, reduzindo as espécies reativas e inibindo o dano oxidativo ao DNA; em contrapartida, análises *in vivo* revelaram que não houve nenhuma alteração no estado antioxidante ou no desempenho. Nessa mesma perspectiva, Dalla Corte et al. (2013) demonstraram que a suplementação aguda de suco de uva tinto em ratos Wistar machos foi capaz de proteger diferentes tecidos contra danos oxidativos causados por uma sessão de exercício exaustivo.

Xianchu et al. (2018) testaram doses de 1, 50 e 100 mg/ kg/ dia do extrato de proantocianidina de semente de uvas em ratos jovens machos durante 28 dias consecutivos e observaram aumento no tempo de natação até a exaustão, acompanhado de aumento a atividade de enzimas antioxidantes e redução de biomarcadores de peroxidação lipídica, desgaste muscular e inflamação, além da melhoria da atividade mitocondrial.

Apesar da existência de um número razoável de estudos com modelo animal e produtos derivados da uva, somente um destes foi realizado com o suco da uva, sendo os demais com extratos da folha, da semente ou do bagaço da uva completa, além do vinho. Isto indica a necessidade de mais estudos para avaliar a verdadeira capacidade antioxidante e ergogênica do suco da uva.

Os ensaios clínicos em humanos e a relação da suplementação com produtos derivados das uvas vêm crescendo, no âmbito do desempenho esportivo. Estes avaliaram o efeito de produtos ou subprodutos derivados das uvas tintas sobre estresse oxidativo, inflamação, desempenho físico, além da percepção subjetiva do estado de humor e de dor pós-exercício.

Lafay et al. (2009) observaram que a capacidade de resistência em handebolistas aumentou em 20% e o poder de explosão tendeu a aumentar 3% após 30 dias de suplementação com extrato de uva (400mg/dia) e essa melhoria na *performance* física foi atribuída ao aumento da capacidade antioxidante, redução da atividade da enzima indicadora de dano muscular (creatinoquinase), e aumento na concentração de hemoglobina. Entretanto, não ocorreram alterações nas concentrações plasmáticas das vitaminas C e E, ureia e ferritina.

Rietschier et al. (2011) avaliaram 10 homens saudáveis praticantes de exercícios e observaram que não houve melhora do desempenho para potência ou endurance, mas houve uma manutenção das concentrações plasmáticas de glicose em resposta a suplementação de 28g de uvas passas a cada 20 minutos, durante 2h de teste. Resposta similar ao placebo que apresentava as mesmas características para carboidratos.

Labonté et al. (2013) suplementaram atletas de elite, de ambos os sexos, com uma dose aguda de polifenóis de cranberries e sementes de uva (600 mg e 800mg) e não observaram melhor tempo de exaustão, porém apresentaram menores concentrações de lactato pós-teste.

O'connor et al. (2013) testaram a ingestão de 46 g de liofilizado de uva (uvas verdes, tintas e vermelhas, sem semente) durante 45 dias, em adultos saudáveis submetidos à teste de corrida na esteira até a exaustão e não observaram nenhuma diferença sobre o VO<sub>2</sub>máximo, tempo de teste, estado de humor, inflamação e percepção de dor muscular.

Silvestre et al. (2014) suplementaram triatletas de nível competitivo com duas doses de 300mL de suco de uva concentrado, nos momentos pré e pós-teste, e observaram uma modulação do estresse oxidativo induzido pelo exercício (triathlon) similar ao do grupo placebo. Em contrapartida, Toscano et al. (2015) investigaram o potencial efeito ergogênico da suplementação crônica com suco de uva tinto (10mL/kg/dia por 28 dias) sobre o desempenho físico de corredores recreacionais e observaram que a suplementação promoveu aumento do tempo de corrida até a exaustão, acompanhado pela aumento da atividade antioxidante e redução de um dos marcadores inflamatórios.

Taghizadeh et al. (2016) avaliaram jogadoras de voleibol suplementadas com 300 mg de extrato de semente da uva durante oito semanas e constataram efeitos benéficos nas concentrações plasmáticas em repouso de glutathione, malondialdeído e marcadores de insulina. Entretanto, não foram vistas modificações nas concentrações plasmáticas de atividade antioxidante total, nitrito, glicemia de jejum e perfil lipídico, nas mesmas circunstâncias, quando comparado ao grupo placebo.

Deley et al. (2017) suplementaram homens adultos jovens fisicamente ativos (500 mg de polifenóis) uma hora antes do teste e observaram melhoria do desempenho físico por meio maior tempo de exaustão ( $> 9,7\%$ ), além de percepção de esforço tardia e um maior tempo de recuperação, medida por meio de trocas gasosas.

Em suma, os estudos que abordam o poder antioxidante e anti-inflamatório do suco de uva tinto envolvendo exercício físico e desempenho esportivo vêm se tornando bastante relevante. Na maioria dos estudos, o exercício aparece apenas como um modelo experimental para promover o estresse oxidativo, a fim de se avaliar o efeito das uvas e derivados. Poucas pesquisas (SILVESTRE et al., 2014; TOSCANO et al., 2015) têm evidenciado a eficácia do suco de uva tinto integral como um potente auxiliar ergogênico na recuperação e melhoria do desempenho físico de atletas.

**Quadro 1** – Estudos sobre suplementação com produtos derivados de uvas tintas e seus possíveis efeitos ergogênicos e metabólicos sobre o desempenho físico.

| AUTOR/ ANO               | AMOSTRA                                 | EXERCÍCIO                                                                                         | SUPLEMENTAÇÃO                                                                                                                                    | PARÂMETROS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | RESULTADOS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Minegishi et al. (2011)  | 24 camundongos machos                   | Teste de exaustão na natação (fluxo sanguíneo de 7L/min, 2x/sem durante 10 sem).                  | 0,5% de extrato das folhas de uvas tintas na dieta (59% teor de polifenóis; 0,6% de antocianinas; 0,02% de transresveratrol) durante 10 semanas. | *Resistência na natação<br>*Lactato plasmático<br>*Oxidação de AGNE<br>*Atividade da EOAG-ME<br>*Glicose<br>*Colesterol Total<br>*HDL-c<br>*Triglicerídeos<br>*Expressão de mRNA<br>1-Metabolismo lipídico e função mitocondrial (Aco, Cpt1b, Hadha, Pdk4, Cd36) no músculo sóleo.<br>2- Fatores de transcrição (Pgc1a, Pgc1b, NRF1, TFAM) no músculo sóleo.<br>3-Hormônio Lipase Sensível no Tecido adiposo mesentérico. | ↑ resistência na natação<br>=[lactato plasmático] pós-exercício<br>↑oxidação de AGNE pós-exercício<br>↑Atividade da EOAG-ME<br>= Glicose<br>↑Colesterol Total<br>↑HDL-C<br>= Triglicerídeos<br><br>*Expressão de mRNA<br><br>1-↑Aco, Cpt1b e = Hadha, Pdk4, Cd36.<br><br>2- ↑ Pgc1α, NRF1, TFAM e = Pgc1β<br><br>3- ↑ Hormônio Lipase Sensível |
| Dal-Ros et al. (2011)    | ~30 ratos idosos                        | Teste de corrida (5m/min) até a exaustão.                                                         | 25 mg/kg/dia ou 75/mg/kg/dia (2,9g de extrato fenólico em 1L de vinho tinto e 471 mg / g de polifenóis totais, expressos como EAG).              | *Disfunção endotelial<br>*Reatividade vascular (mesentérica)<br>*EROS<br>*Enzimas AT1R e AT2R.<br>* Condicionamento físico                                                                                                                                                                                                                                                                                                | ↓ comprometimento NO, ACh e mediador de EDHF.<br><br>=estresse oxidativo vascular.<br>Normalizou eNOS e peroxinitritos.<br>Restaurou a expressão das enzimas AT1R e AT2R.<br>↑Condicionamento físico (apenas 75/mg/kg/dia)                                                                                                                     |
| Belviranlı et al. (2012) | 64 <i>Sprague–Dawley</i> machos adultos | <b>Crônico:</b> corrida em esteira com velocidade de 25 m/ min, 45 min / d, 5 d/ semana durante 6 | 100mg/kg de extrato da semente de uva diluído em água (diméricos 54 %; triméricos 13%; tetraméricos 7 % e                                        | *MDA<br>*XO<br>*ADA<br>*NO<br>*SOD iso-enzimas (Cu/Zn, Mn e                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | ↓ MDA (agudo e crônico)<br>= XO (crônico) e ↓ pós-exaustão<br>= ADA (crônico) e ↓ pós-exaustão<br>↑ NO (agudo e crônico)                                                                                                                                                                                                                       |

|                           |                                |                                                                                                |                                                                                                                                    |                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|---------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                           |                                | semanas.<br><br><b>Agudo:</b> corrida em esteira 30m/min até a exaustão                        | monoméricos proantocianidinas < 5%) durante 6 semanas.                                                                             | FeSOD);<br>*GPx<br>*Tempo de Exaustão                                                                                                    | ↑ SOD (agudo e crônico)<br>↑ GPx (agudo e crônico)<br>= tempo de exaustão                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Veskoukis et al. (2012)   | 40 ratos Wistar adultos machos | Teste de natação até a exaustão com carga 4% do PC.                                            | 300 mg·kg de extrato do bagaço da uva (polifenóis totais 648mg ácido gálico /g extrato) via intraperitoneal 1h antes do exercício. | *XO<br>*Carbonilação de Proteínas<br>*TBARS<br>*CAT<br>*GSH<br>*Catalase                                                                 | = Tempo de exaustão<br><b>Plasma</b><br>= XO<br>↑ CAT<br>↑ menor da carbonilação e TBARS<br><b>Eritrócitos</b><br>= carbonilação<br>↑ maior TBARS<br>↓ maior GSH<br>= Catalase<br><b>Gastrocnêmio</b><br>↑ XO<br>= CAT, carbonilação, GSH e TBARS<br>↑ Catalase<br><b>Coração</b><br>= XO, CAT, carbonilação, GSH, TBARS e Catalase<br><b>Fígado</b><br>= XO, CAT, carbonilação e catalase<br>↑ TBARS<br>= GSH |
| Dalla Corte et al. (2013) | 32 ratos Wistar machos         | Resistência na natação (15 séries de 20s com carga adicional de 15% do PC e intervalo de 10s). | 25 mL de suco de uva tinto – única dose (composição não informada).                                                                | *MDA no cérebro, músculo esquelético e sangue<br>*EROS<br>*SH-NP<br>*Na <sup>+</sup> e K <sup>+</sup> ATPase<br>*Ca <sup>2+</sup> ATPase | * = peroxidação lipídica e EROS de diversos tecidos pós-exercício exaustivo;<br>* SH-NP foi menor em todos os tecidos;<br>* = Na <sup>+</sup> e K <sup>+</sup> ATPase nos grupos submetidos ao exercício. Foram maiores no grupo suplementado e sem exercício.                                                                                                                                                 |

|                       |                                            |                                                     |                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                       |                                            |                                                     |                                                                                                                                          | * $\delta$ -ALA-D                                                                                                                                                                         | * $\uparrow$ 50% $\text{Ca}^{2+}$ ATPase no grupo suplementado sem exercício e $\uparrow$ 125% no controle. = nos grupos com exercício.<br>* $\uparrow$ $\delta$ -ALA-D em todos os grupos, sem diferença.                                                                                                                          |
| Xianchu et al. (2018) | 32 ratos machos jovens                     | Teste de natação até a exaustão com carga 5% do PC. | 1, 50 e 100 mg/ kg/ dia do extrato de proantocianidina de semente de uvas.                                                               | * tempo de exaustão<br>* Ácido láctico<br>* LDH<br>* CK<br>* MDA<br>* CAT<br>* CAOT<br>* SOD<br>* $\text{TNF-}\alpha$<br>* IL-1 $\beta$<br>* SDH<br>* $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}$ -ATPase | $\uparrow$ desempenho físico<br><br><b>Plasma</b><br>$\downarrow$ ácido láctico, LDH e CK<br><br><b>Plasma e músculo esquelético</b><br>$\downarrow$ MDA<br>$\uparrow$ CAT, CAOT E SOD<br>$\downarrow$ $\text{TNF-}\alpha$ e IL-1 $\beta$<br><br><b>Músculo esquelético</b><br>$\uparrow$ SDH e $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}$ -ATPase |
| Lafay et al. (2009)   | 20 atletas de elite de esporte explosivos. | Manter a rotina de treinamento e competições.       | 400mg/dia de extrato de uva administrados em cápsula (> 90% polifenóis totais, flavanois totais > 50% e > 12% ácido gálico) por 30 dias. | *ORAC<br>*FRAP<br>*oxidação do LDL<br>*SOD<br>*GPx<br>*Catalase<br>*Vit E<br>*Vit C<br>*Isoprostanos urinários<br>*CPK<br>*Ferritina<br>*Ureia<br>*Desempenho Físico                      | $\uparrow$ ORAC<br><br>= FRAP, oxidação do LDL, SOD, GPx, catalase, Vit C, Vit E, CPK, isoprostanos urinários, ureia<br><br>$\uparrow$ [Hb]<br><br>$\downarrow$ ferritina, em ambos<br><br>$\uparrow$ desempenho físico                                                                                                             |
| Rietschier (2011)     | 10 ciclistas e triatletas treinados.       | Uvas passas                                         | 120 minutos com carga constante, seguido de teste de 10km .                                                                              | 23 g de carboidratos a cada 20 minutos                                                                                                                                                    | $\uparrow$ glicose plasmática<br>= desempenho físico                                                                                                                                                                                                                                                                                |

|                         |                               |                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                     |                                                                                               |
|-------------------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Labonté et al. (2013)   | 14 ciclistas de elite         | Polifenóis de semente de uvas combinado com Cranberries.                                                                 | Dois protocolos:<br>Polifenóis x dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial em atletas de elite<br><br>Polifenóis x performance Ciclismo 3km                                                                                                                                                                                                 | 600mg de polifenóis (semente de uvas + Cranberries).<br><br>800mg de polifenóis (semente de uvas + Cranberries).                    | =desempenho anaeróbico do ciclismo.<br><br>↑ dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial |
| O'Connor et al. (2013)  | 40 adultos fisicamente ativos | Manter a rotina de treinamento e competições.                                                                            | 46g de liofilizado de uvas verdes, tintas e vermelhas, sem semente (resveratrol = 1,75 mg/kg, catequina = 19,7 mg/kg, epicatequina = 12,6 mg/kg, peonidina = 31,7 mg / kg, cianidina = 125 mg / kg, malvidina = 145,2 mg/kg e quercetina = 32,6 mg/ kg, kaempferol= 5,6 mg/ kg, isoramnetina= 6,8 mg/kg) diluído em água 236,6 mL durante 45 dias. | *VO <sub>2</sub> max<br>*Composição corporal<br>*Teste 1RM<br>* teste de exaustão<br>*estado de humor<br>*percepção de dor muscular | = todas as variáveis.                                                                         |
| Silvestre et al. (2014) | 6 triatletas competitivos     | Manter a rotina de treinamento e competições.<br>Treino semanal (270,8 ± 87,1km)<br>Treino diário (3,1 ± 1,88 horas/dia) | Fenólicos totais (45,8 EAGg/kg) e Antioxidantes (27,03g vit C eq/kg)<br><br>33g concentrado (1,5 g de polifenóis) diluído em 300mL de água.<br>Duas doses – pré e pós-treino.                                                                                                                                                                      | *SOD<br>*TBARS<br>*CAT<br>*GSH                                                                                                      | ↑SOD em ambos os grupos.<br><br>= CAT, GSH e TBARS em ambos os grupos, no pós-exercício.      |
| Toscano et al. (2015)   | 28 corredores recreacionais   | Mantiveram a rotina de treinos e                                                                                         | 10ml/kg/dia de Suco de uva tinto (1,82 g/L                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | *LAn<br>*VO <sub>2</sub> pico                                                                                                       | ↑ LAn (Δ)<br>= VO <sub>2</sub> pico                                                           |

|                          |                              |                                                                                                    |                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                 |
|--------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |                              | competições.<br><br>Teste de corrida até à exaustão, em esteira com velocidade constante pelo LAn. | fenólicos totais; 52,6 mg/antocianinas totais; e 1,16 mol EAG/mL atividade antioxidante) durante 28 dias.                       | *Tempo de exaustão<br>*CAT<br>*MDA<br>*Vit A e E<br>*NO<br>*Ácido Úrico<br>*PCR-us<br>*A1GPA<br>*Leucograma<br>*Ck<br>*LDH<br>*AST                                         | ↑ tempo de exaustão<br>↑ CAT , Vit A e ácido úrico<br>↓ A1GPA<br><br>= Os demais biomarcadores.                                                                 |
| Taghizadeh et al. (2016) | 40 jogadoras de voleibol     | Mantiveram a rotina de treinos e competições.                                                      | 300mg de GSE 2x/dia por 8 semanas                                                                                               | *CAOT<br>*FRAP<br>*GSH<br>*MDA<br>*NO<br>*CPK<br>*Glicose<br>*Colesterol total e frações<br>*HOMA-IR<br>*HOMA-B<br>*Insulina                                               | ↓ MDA e NO<br><br>↓ HOMA-IR, HOMA-B e insulina<br><br>=demais variáveis.                                                                                        |
| Deley et al. (2017)      | 48 homens fisicamente ativos | Mantiveram a rotina de exercícios de 3,9 ±1,0 h/semana.                                            | Na noite anterior e 1 h antes do teste, duas cápsulas totalizando = 500 mg (polifenóis de uva e maçã) ou 500mg (maltodextrina). | Tempo de exaustão<br>FC<br>Tempo de recuperação FC<br>PAS/ PAD<br>VO <sub>2</sub><br>Tempo de recuperação VO <sub>2</sub><br>VE<br>Tempo de esforço máximo<br>Dor muscular | Grupo polifenóis<br>↑ tempo de exaustão<br>↑ tempo de esforço máximo<br>↑ tempo de recuperação (trocas gasosas)<br><br>= demais variáveis para ambos os grupos. |

**LEGENDA** = (↑) aumentou/ maior; (↓) reduziu/ menor; (Ø) suprimiu; (=) sem alterações; **AGNE**: Ácidos Graxos Não Esterificados; **EOAG – ME**: Enzima de Oxidação

dos Ácidos Graxos no músculo esquelético; **HDL-c** = lipoproteína de alta densidade – colesterol; **mRNA** = ácido ribonucleico mensageiro; **Aco** = Acil Coenzima oxidase; **Cpt1b** = Carnitina Palmitoil Transferase 1b; **Hadha** = subunidade alfa enzima; **Pdk4** = Piruvato Desidrogenase Quinase 4; **Cd36** = grupo translocase de ácidos graxos da diferenciação 36; **Pgc1a** = coativador-1 alfa de receptor ativado por proliferador de peroxissoma; **Pgc1b** = coativador-1 beta de receptor ativado por proliferador de peroxissoma; **NRF 1** = fator respiratório nuclear 1; **TFAM** = fator de transcrição mitocondrial A; **EAG** = equivalentes de ácido gálico; **EROS** = espécies reativas de oxigênio; **AT1R** = receptores de angiotensina II tipo 1; **AT2R** = receptores de angiotensina II tipo 2; **NO** = nitrito; **ACh** = acetilcolina; **EDHF** = fator hiperpolarizante endotelial; **eNOS** = enzima óxido nítrico sintases; **MDA** = malondialdeído; **XO** = xantina oxidase; **ADA** = adenosina deaminase; **SOD** = superóxido dismutase; **Cu** = cobre; **Zn** = zinco; **Mn** = manganês; **Fe** = ferro; **GPx** = glutathione peroxidase; **TBARS** = espécies reativas ao ácido; **SDH** = succinato desidrogenase; **CAT** = catalase; **GSH** = glutathione; **SH-NP** = sulfidril não proteico; **Na** = sódio; **K** = potássio; **ATPase** = adenosinatrifosfatases; **Ca** = cálcio; **δ-ALA-D** = aminolevulinato desidratase sigma; **LDH** – lactate Desidrogenase; **CK** = creatinaquinase; **CAOT** = capacidade antioxidante total; **TNF-α** = fator de necrose tumoral alfa; **IL-1β** = interleucina 1 beta; **SDH** = succinato desidrogenase; **ORAC** = Capacidade de absorvência do radical de oxigênio; **FRAP** = Poder antioxidante férrico de redução; **LDL** = lipoproteína de baixa densidade; **GPx** = glutathione peroxidase; **Vit E** – vitamina E; **Vit C** = vitamina C; **CPK** = creatina fosfatoquinase; **Hb** = hemoglobina; **VO<sub>2</sub>** = consumo de oxigênio; **RM** = repetições máximas; **PCR-us** = proteína C reativa ultrasensível; **A1GPA** = alfa-1-glicoproteína ácida; **AST** = aspartato aminotransferase; **HOMA-IR** = Modelo de Avaliação da Homeostase para resistência à insulina; **HOMA-β** = Modelo de Avaliação da Homeostase para as células β pancreáticas; **FC** = frequência cardíaca.

## 2.2. ASPECTOS GENÉTICOS

### 2.2.1 Polimorfismos genéticos associados ao desempenho atlético e as diferentes respostas à suplementação esportiva

A sequência do genoma humano foi um dos mais marcantes avanços da ciência no século passado (GOLDSTEIN; CAVALLERI, 2005). O genoma consiste em bilhões de pares de bases presentes em cada célula nucleada do corpo, e que permaneceu conservado ao longo da evolução (MEYERS, 2004). Segundo Pedersen, Posner e Gatz (2001), pelo menos 99,5% do genoma humano são idênticos entre os humanos. Entretanto, ocorrem variações em relação ao padrão de referência na ordem de 0,1% (SULLIVAN; KENDLER; NEALEE, 2003; CHEUNG, 2005) a 0,5% (LIEBERMAN, 2005) do genoma. Quando isto ocorre em pelo menos 1% de uma população, este fenômeno é denominado polimorfismo genético, que por sua vez é uma variação na sequência alélica em determinada posição (locus) do DNA humano (SCHAFER; HAWKINS, 1998).

As consequências fenotípicas de um polimorfismo genético podem ser de caráter negativo, por exemplo, quando predispõe o indivíduo à doenças cardiometabólicas e câncer, caráter positivo, predispondo pessoas a apresentarem potenciais físicos acima da média populacional (RIBEIRO et al., 2013), ou ainda, podem não apresentar nenhuma modificação (nula) ou característica desconhecida. Neste sentido, a predisposição genética tem sido considerada um fator influenciador sobre o desempenho esportivo de alto nível, podendo caracterizar importantes implicações para os atletas (DIAS et al., 2007).

Mutações na sequência alélica associadas à melhoria do desempenho de atletas têm sido chamadas de PEPs (*Performance Enhancing Polymorphisms*) (OSTRANDER et al., 2009; RIBEIRO et al., 2013). Um grande corpo de evidências vem demonstrando a associação dessas variantes genéticas, dentre elas o Polimorfismos de Nucleotídeo Único ou SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) (DIAS et al., 2007; CALÒ; VONA, 2008; VANCINI et al., 2014).

No mapa genético humano, há mais de 100 variantes genéticos relacionados a performance esportiva (DIAS et al., 2007; KIM; SONG; KIM, 2014; AHMETOV; FEDOTOVSKAYA, 2015). As pesquisas têm aumentando vertiginosamente desde 1997 quando surgiram as primeiras descobertas. Ahmetov e Fedotovskaya (2015) constataram que

a maioria desses polimorfismos (70%) foi identificada entre 2010 e 2014 indicando um crescente interesse no campo da genômica esportiva. De acordo com Ahmetov e Fedotovskaya (2015) e Rankinen et al. (2016) existem diversos polimorfismos genéticos presentes na literatura que exercem influência sobre o desempenho físico e o metabolismo de atletas, como por exemplo:  $\alpha$ -actinina-3 (ACTN3 R577X), receptor  $\beta$ 2-adrenérgico (ADRB2 Gli16Arg), angiotensina (AGT Met235Thr), adenosina monofosfato (AMPD1 Gln12X), aquaporin 1 (AQP1 C/G), creatinaquinase muscular (CKM A/G), colágeno tipo 5-  $\alpha$ 1 (COL5A1 C/T), enzima conversora da angiotensina (ECA I/D), eritropoietina (EPO T/G), subunidade  $\beta$ 1 do fator de transcrição da proteína de ligação GA (GABPB1 A/C), proteína reguladora do ferro homeostático (HFE His63Asp), fator 1- $\alpha$  induzível por hipóxia (HIF1A Pro582Ser), interleucina-6 (IL6 174C/G), metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR A1298C), co-ativador  $\gamma$ 1 de receptor  $\alpha$  ativado por proliferador de peroxissomo (PPARGC1A Gli482Ser), receptor  $\alpha$  ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR $\alpha$  7G/C), receptor  $\gamma$  ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR $\gamma$  Pro12Ala), receptor  $\delta$  ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR $\delta$  T/C), superóxido dismutase 2 (SOD2 Ala16Val) e proteína de desacoplamento da membrana 3 (UCP3 C/T).

Dentre os diversos genes, os mais fortemente citados na literatura que envolvem polimorfismos associados ao desempenho esportivo estão ECA (Enzima Conversora de Angiotensina), ACTN3 (actinina-3) e PPAR $\alpha$  (Receptor Alfa Ativado por Proliferador de Peroxissoma) tanto atletas de endurance como de força (AHMETOV et al., 2009; AHMETOV; FEDOTOVSKAYA, 2015).

Em humanos foram descritos quatro genes da actinina ou  $\alpha$ -actinina (ACTNs), uma proteína pertencente à família das proteínas ligantes da actina: ACTN1, ACTN2, ACTN3 e ACTN4. No entanto, apenas duas isoformas (ACTN2 e ACTN3) como constituintes musculares esqueléticos. A isoforma ACTN3 é específica das fibras de contração rápida (tipo II) responsáveis pela geração de força contrátil em alta velocidade. Para o polimorfismo R577X no gene ACTN3, os genótipos RR e RX (presença do alelo R) expressam a forma funcional da  $\alpha$ -actinina-3, enquanto o genótipo XX é uma forma truncada (inativa). A deficiência dessa proteína pela presença do polimorfismo (genótipo XX) apesar de não resultar em nenhum efeito patológico, gera uma desvantagem no desempenho esportivo para atividades com característica de força, potência e velocidade (KIM et al., 2014). Por outro lado, a deficiência de ACTN3 tem sido associada a melhor desempenho de endurance (YANG et al., 2003; EYNON et al., 2013) e melhor resposta ao treinamento de resistência

(CLARKSON et al., 2005). É provável que a  $\alpha$ -actinina-2 (ACTN2) seja capaz de “compensar” a ausência de ACTN3 nas fibras do tipo II (YANG et al., 2003), podendo haver uma regulação positiva, pois está presente tanto nas fibras do tipo I como nas do tipo II (HOGARTH et al., 2016).

A literatura tem demonstrado que 18% a 24% da população mundial não atleta possui genótipo XX, presença do polimorfismo ACTN3 R577X (YANG et al., 2003; HOGARTH et al., 2016; PAPADIMITRIOU et al., 2018) e 50% apresenta genótipo RX. Enquanto que, a frequência do genótipo XX varia de 20% a 28% em atletas de endurance e de 0% a 8% em atletas de força. Os genótipos RR e RX aparecem com frequência de 50 e 45%, respectivamente, em atletas de força.

Outro variante genético pode ser observado a partir dos receptores ativados por proliferador de peroxissoma, conhecidos como PPARs (*Peroxisome Proliferator - Activated Receptor*), que são proteínas nucleares atuantes sobre os fatores de transcrição genética e desempenham papel fundamental no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios (MACIEJEWSK-KARLOWSKA, 2013). Os PPARs podem estar apresentados em três isotipos: PPAR $\alpha$  (alfa), PPAR $\delta$  (delta) e PPAR $\gamma$  (gama) sendo cada um destes se expressa de modo mais característico em tecidos específicos. O PPAR $\alpha$ , encontra-se expresso no fígado, rins, coração, tecido adiposo e principalmente, músculo esquelético (TYAGI et al., 2011).

O gene Receptor  $\alpha$  Ativado por Proliferador de Peroxissoma (PPAR $\alpha$ ) é um fator de transcrição que regula a homeostase energética e se expressa mais fortemente nas fibras musculares de contração lenta (tipo I). Atua sob o metabolismo de ácidos graxos, principalmente a nível mitocondrial, regulando enzimas-chaves envolvidas na oxidação de ácidos graxos musculares e, conseqüentemente, está envolvido na melhor performance de atletas de endurance (AHMETOV; FEDOTOVSKAYA, 2015). Além disso, apresenta um papel regulador potencial nas vias de estresse oxidativo (TYAGI et al., 2011) e inflamação.

Um polimorfismo importante desse isotipo é o PPAR $\alpha$  7G/C (rs4253778), o qual implica diretamente nos fenótipos de performance esportiva, podendo afetar a expressão do mRNA do PPAR $\alpha$  e/ou proteína que, por sua vez, interferir na ativação transcricional do gene PPAR $\alpha$  alvo, e ainda, modificar o controle da oxidação de ácidos graxos e um possível desequilíbrio do estado antioxidante (MACIEJEWSKA; SAWCZUK; CIESZCZYK, 2011). A presença do genótipo CC do polimorfismo PPAR $\alpha$  7G/C tende a apresentar menor eficiência na oxidação de ácidos graxos, e o genótipo GG conserva por mais tempo as reservas de glicogênio, utilizando a via oxidativa de ácidos graxos de forma mais eficiente, ideal para

provas longas. As evidências apontam uma frequência aumentada para genótipo GG em grupos de atletas de resistência (50 a 90%) e baixa frequência para o genótipo CC (12%) (AHMETOV et al., 2006; MACIEJEWSKA; SAWCZUK; CIESZCZYK, 2011).

Diante desse contexto, a avaliação de um único gene, de forma isolada, não é capaz de determinar o fenótipo de um atleta (MACARTHUR; NORTH, 2004; DIAS et al., 2007), pois essa é uma condição que envolve diversos genes atuantes. Além das variantes genéticas, existem diversos aspectos ambientais e biológicos que influenciam no desempenho esportivo. Dentre estes, estão os aspectos nutricionais que são capazes de interagir e modular mecanismos moleculares e fisiológicos essenciais, sugerindo uma evolução no campo das ciências da nutrição clássica combinada com a biologia molecular (MUTCH; WAHLI; WILLIANS, 2005).

As informações acerca da interação entre os genes e os compostos dos alimentos, como os nutrientes e as substâncias bioativas, permitiram o surgimento de uma nova linha de pesquisa nas ciências da nutrição, denominada de nutrigenética. A nutrigenética estuda a interação entre variação genética (polimorfismo) e dieta, identificando os genes responsáveis por diferentes respostas aos mais diversos compostos alimentares (FUJII; MEDEIROS; YAMADA, 2010). Por ser uma área de investigação relativamente nova, com perspectivas bastante promissoras, poucos estudos de intervenção foram realizados, até o momento, para uma melhor compreensão dos mecanismos e dos reais impactos sobre a população. De fato, no contexto da nutrição esportiva, os estudos que relacionam genes e nutrientes são bem mais escassos e controversos.

Em 2012, Womack et al. investigaram a influência do polimorfismo CYP1A2 (C/A) no gene do citocromo P450 sobre os efeitos ergogênicos da cafeína em atletas ciclistas. Este polimorfismo é caracterizado pelo genótipo CC e afeta o metabolismo da cafeína, tornando-o mais lento, e em resposta a suplementação de cafeína (6mg/kg) os atletas com polimorfismo apresentam um menor aproveitamento dos seus benefícios ergogênicos. Assim, Womack et al. (2012) observaram que os atletas homozigotos AA (sem polimorfismo) apresentaram uma melhoria maior no desempenho esportivo (4,9%), enquanto que os que apresentavam o polimorfismo (genótipo CC) melhoraram apenas 1,8%. Estes resultados sugerem que os ciclistas portadores do polimorfismo CYP1A2 (C/A) no gene do citocromo P450, apresentam uma menor magnitude dos efeitos ergogênicos da cafeína quando comparados a atletas com metabolismo enzimático ótimo da CYP450 (sem polimorfismo).

Lifanov et al. (2014a) avaliaram a influência do polimorfismo Pro198Leu do gene GPX1 sobre a eficácia da suplementação com glutatona em atletas corredores e não atletas.

Este polimorfismo é caracterizado pelo genótipo Leu/Leu, responsável por alterações modificações na atividade da glutathione, diminuindo a resposta antioxidante enzimática, além de interferir nas concentrações sanguíneas de selênio, um mineral fortemente relacionado à atividade da glutathione. Esta hipótese foi confirmada por Lifanov et al. (2014a) ao demonstrarem que a melhor resposta a suplementação de glutathione sódica para capacidade aeróbia e atividade antioxidante foi apresentada pelos corredores com alelo GPX1 Pro (sem polimorfismo). No mesmo ano, Lifanov et al. (2014b) investigaram os efeitos da suplementação com creatina no desempenho físico de jogadores de futebol e a interação com polimorfismo C34T, no gene AMPD1. O genótipo TT, no gene AMPD1 (adenosina monofosfato desaminase) caracteriza uma atividade muscular esquelética extremamente baixa para a produção de ATP, desfavorecendo atletas em atividades esportivas de força, velocidade e explosão. No estudo de Lifanov et al (2014b) observou-se que para o gene AMPD1 a melhor resposta a suplementação com creatina foi no genótipo CT, quando comparado ao genótipo CC, característico do polimorfismo. Os atletas heterozigotos (CT), ou seja, os que não apresentavam o polimorfismo genético tiveram uma recuperação mais rápida, devido a um menor acúmulo de lactato sanguíneo, além de melhorar a capacidade aeróbia, caracterizada pelo maior aumento  $VO_{2max}$ .

Os estudos apresentados até o momento abordaram a influência dos polimorfismos frente à suplementos esportivos comerciais, com eficácia bem consolidada na literatura. Entretanto, nos últimos anos a literatura tem apresentado controvérsias acerca da segurança e eficácia do uso de suplementos (KERKSICK et al., 2018; TUCKER et al., 2018) e, como uma alternativa, a busca pelo consumo de antioxidantes naturais a partir de alimentos, tem substituído o uso de produtos sintéticos (suplementos isolados comercializados) (MIRANDA-VILELA, 2012). Neste contexto, Ribeiro et al. (2013) investigaram a influência do polimorfismo R577X, no gene da ACTN3, e do T/G, no gene da eritropoietina (EPO) em corredores recreacionais suplementados com óleo de pequi. O gene da EPO atua na regulação da produção dos glóbulos vermelhos, que tem como principais funções a diferenciação dos eritrócitos e a síntese de hemoglobina, consequentemente aumentando o aporte de oxigênio para os tecidos. Sugere-se que o polimorfismo da EPO (genótipo GG) pode gerar uma desvantagem aeróbia para os atletas, além de complicações na formação de eritrócitos. Em estudo realizado por Ribeiro et al. (2013), o polimorfismo da EPO influenciou nos resultados do eritrograma e plaquetas, sugerindo uma vantagem aeróbica para o genótipo TG. Ambos os polimorfismos influenciaram na resposta à suplementação com óleo de pequi: foram

observadas melhores respostas para o genótipo TT nos eritrócitos, hematócritos, hemoglobina corpuscular média e valores médios de concentração de hemoglobina corpuscular. A distribuição dos glóbulos vermelhos e o diagrama plaquetário foram melhorados nos atletas com genótipos TT e TG. O polimorfismo do ACTN3 influenciou principalmente nas concentrações dos biomarcadores de dano muscular, onde os heterozigotos RX apresentaram redução na enzima aspartato aminotransferase (AST) e os homozigotos XX (presença do polimorfismo) redução da enzima creatinaquinase (CK) após a suplementação com pequi.

A síntese dos dados sobre a interação nutrigenética entre polimorfismos e suplementação, está apresentada no Quadro 2.

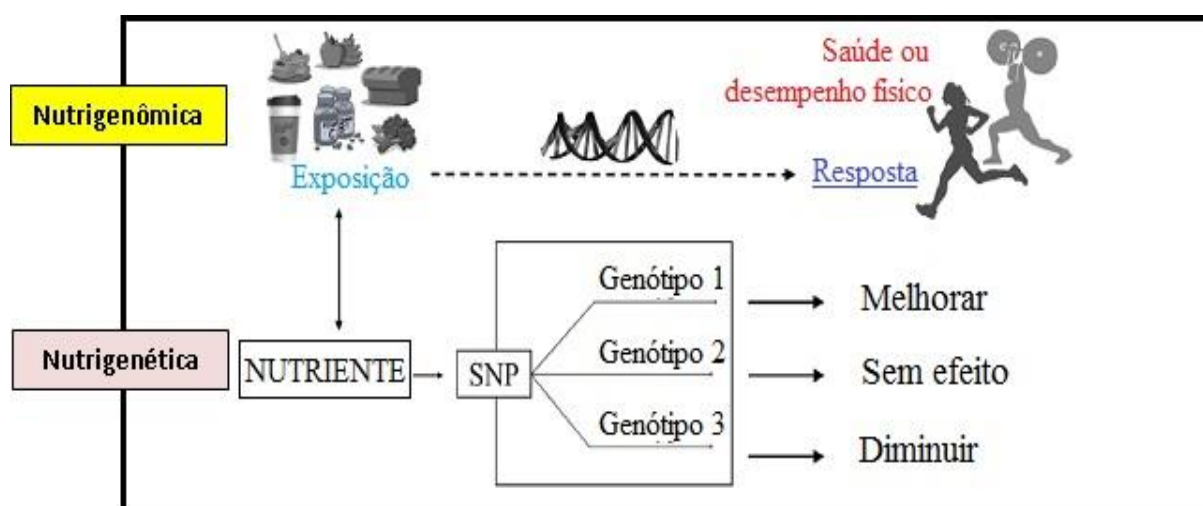
As pesquisas envolvendo os genes citocromo P450, GPX1, AMPD1, PPAR $\gamma$ , EPO e ACTN3 e as respostas á suplementação têm demonstrado que há uma influência genética capaz de potencializar ou minimizar os efeitos ergogênicos (Quadro 2). O genótipo dos atletas podem influenciar no desempenho de velocidade (WOMACK et al. (2012), melhoria da capacidade aeróbia (RIBEIRO et al., 2013; LIFANOV et al, 2014a), aumento da atividade antioxidante (LIFANOV et al, 2014a) e recuperação mais rápida (LIFANOV et al, 2014b). Desta forma, os diferentes genótipos dos mais diversos genes, influenciam nos resultados a suplementação, enfatizando a importância de estudos sobre os efeitos da nutrigenética no âmbito esportivo. Até o momento, poucos estudos demonstraram a relação dos alimentos/suplementos e a interferência genética sob a melhoria do desempenho de atletas profissionais ou recreacionais. Desde o ano de 2012, foram encontrados apenas os quatro estudos apresentados. Porém, nenhum estudo relacionando o potencial ergogênico e antioxidante do suco de uva em atletas, e se essa resposta depende da variabilidade genética individual, como apresentado a partir de outros alimentos e suplementos esportivos.

| Quadro 2 – Influência nutrigenética em resposta ao efeito ergogênico de suplementação.                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                               |                                                     |                          |                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AUTOR/DATA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | GENE                          | POLIMORFISMO                                        | POPULAÇÃO                | SUPLEMENTAÇÃO                     | EFEITO FISIOLÓGICO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Womack et al. (2012)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Citocromo P450                | CYP1A2 A/C                                          | Ciclistas treinados      | Cafeína anidra (6mg/kg)           | Vantagem para desempenho de velocidade.<br>Indivíduos homozigotos para o alelo A podem apresentar maior efeito ergogênico após a ingestão de cafeína.                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Ribeiro et al. (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | EPO<br>ACTN3                  | Eritropoietina (T/ G)<br>$\alpha$ -Actina-3 (R577X) | Corredores recreacionais | Óleo de pequi (400mg) por 14 dias | Vantagem aeróbia (EPO)<br><br>TT - melhorou respostas dos eritrócitos, hematócritos, hemoglobina corpuscular média e valores médios de concentração de hemoglobina corpuscular.<br><br>TT e TG – melhorou distribuição dos glóbulos vermelhos e plaquetas.<br><br>Vantagem para desempenho de velocidade (ACTN3).<br><br>Nenhuma relação de ACTN3 com performance de endurance.<br><br>ACTN3 - heterozigotos ↓AST e homozigotos (XX) ↓CK. |
| Lifanov et al. (2014a)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Glutathione Peroxidase (GPX1) | Pro198Leu                                           | Corredores               | Glutathione sódica (600mg)        | GPX1 Pro - melhor capacidade aeróbia e atividade antioxidante.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Lifanov et al. (2014b)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | AMPD1<br>PPAR $\gamma$        | C34T<br>Pro12Ala                                    | Jogadores de futebol     | Creatina                          | Vantagem para desempenho de velocidade (AMPD1)<br><br>CT - recuperação mais rápida (↓ [lactato]) e melhoria da capacidade aeróbia (VO <sub>2</sub> máx).<br><br>CC - (↑ [lactato])                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Legenda:</b> Citocromo P450 família 1 subfamília A membro 2 (CYP1A2); eritropoietina (EPO); $\alpha$ -actinina-3 (ACTN3); aspartato aminotransferase (AST); creatinaquinase (CK); glutathione peroxidase 1 (GPX1); adenosina monofosfato 1 (AMPD1); receptor $\gamma$ ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR $\gamma$ ); Consumo máximo de oxigênio (VO <sub>2</sub> máx). |                               |                                                     |                          |                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

## 2.2.2 Influência do polimorfismo Arg213Gli no gene SOD3 associado ao estresse oxidativo

A nutrigenética é um ramo novo da nutrição que estuda como as variações genéticas podem afetar a resposta aos nutrientes (PRASAD; IMRHAN; REW, 2011). Na figura 2 está apresentado o esquema conceitual da relação da nutrigenética no esporte, por exemplo, quando o atleta que apresenta um polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) é exposto a um alimento, nutriente ou composto bioativo este pode ser responsivo ou não, e a resposta é dependente, dentre outros fatores, do seu genótipo.

**Figura 2** – Esquema conceitual sobre nutrigenética.



**Legenda** - Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

**Fonte** - Adaptada de Guest et al., 2019

Desta forma, os polimorfismos genéticos podem influenciar nas respostas à suplementação com suco de uva, rico alimento rico em antioxidantes nutricionais e compostos bioativos. De fato, os variantes genéticos da superóxido dismutase (SOD), enzima de primeira linha na reação de proteção antioxidante, pode influenciar na resposta a suplementação.

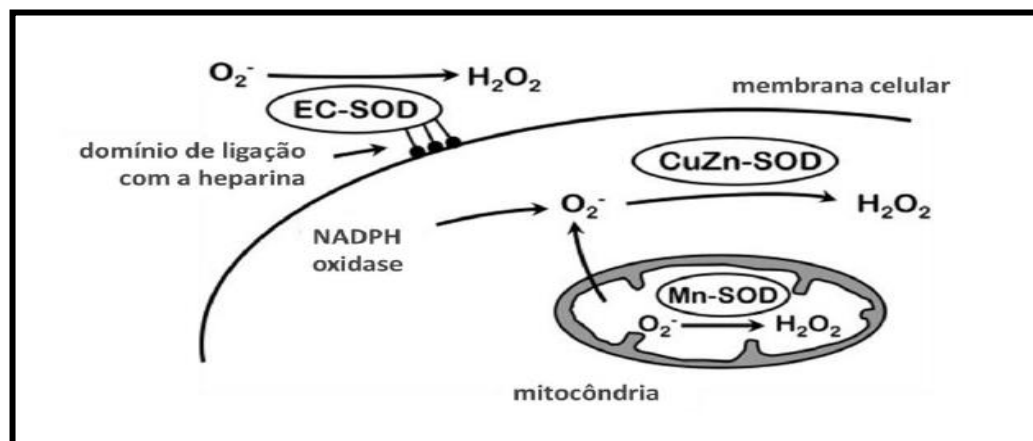
Os polimorfismos nos genes da superóxido dismutase estão diretamente associados a fatores envolvidos na recuperação e melhoria do desempenho físico de atletas, atuando sobre estresse oxidativo e a inflamação. Atletas que realizam treinamentos de alto volume ou intensidade desenvolvem um quadro de estresse e inflamação inicialmente agudo e local, que

pode evoluir para um quadro crônico e de nível sistêmico (SMITH, 2000; ROGERO; MENDES; TIRAPEGUI, 2005), com todas as repercussões negativas, para a saúde, podendo desenvolver uma disfunção neuroimunoendócrina o que caracteriza o fenômeno do *overtraining* comum entre atletas (KREHER; SCHWARTZ, 2012).

Nesse sentido, a caracterização dos polimorfismos nos genes envolvidos na produção endógena antioxidante são de fundamental importância para o atleta, como demonstrado por Lifanov et al. (2014a) o efeito de suplementação antioxidante (glutaciona) de acordo com a variação genotípica dos atletas com base no gene da Glutaciona. Apesar de tamanha relevância, ainda são escassos os estudos no contexto do treinamento físico.

Na literatura é possível identificar três isoformas de SOD podem ser encontradas nos mamíferos: SOD1 (Cu Zn-SOD), SOD 2 (Mn-SOD) e SOD 3 (EC-SOD). A SOD1 e SOD 2 estão presentes no meio intracelular, citoplasma e mitocôndrias, respectivamente, enquanto a SOD 3 está no meio extracelular (Figura 3). Entre eles, o SOD3 é o principal SOD plasmático liberado pelo interstício tecidual, que participa da eliminação de  $O_2^-$  (DONG et al., 2014).

**Figura 3** – Localização celular das isoformas de superóxido dismutase.



**Legenda** – Superóxido ( $O_2^-$ ); Peróxido de Hidrogênio ( $H_2O_2$ ); Superóxido Dismutase Extracelular (EC-SOD); Cobre/Zinco-Superóxido Dismutase (CuZn-SOD); Fosfato de Dinucleotídeo de Adenina e Nicotinamida (NADPH); Manganês-Superóxido Dismutase (Mn-SOD)

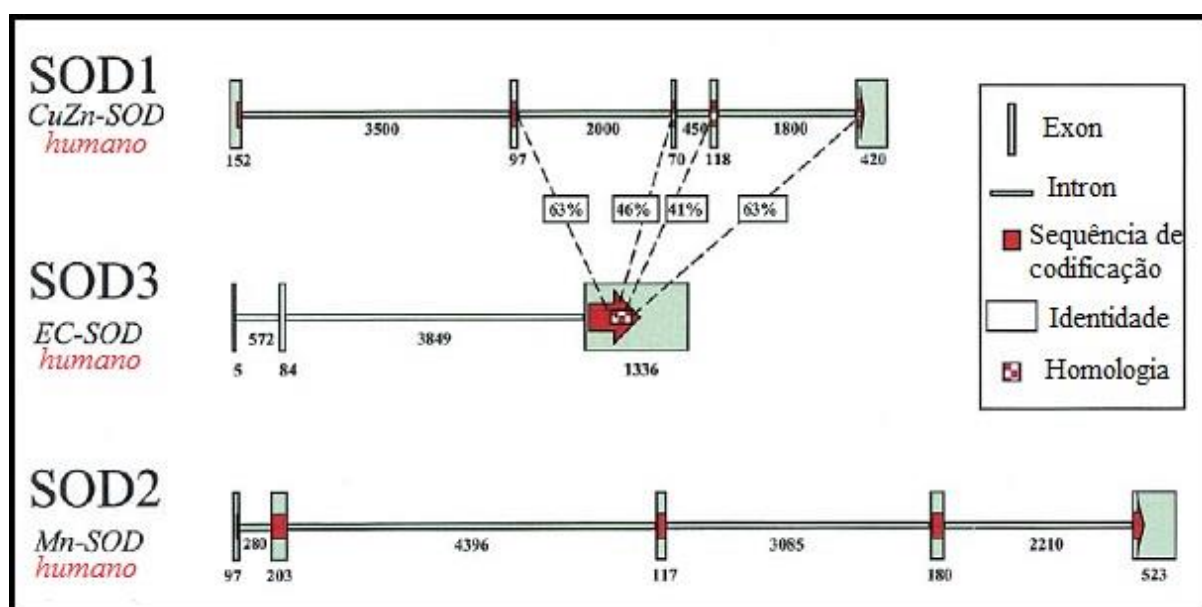
**Fonte:** Faraci e Didion (2004)

Os genes da SOD codificam um componente da família de aminoácidos da superóxido dismutase, que são enzimas antioxidantes catalisadoras dos radicais superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio (ROSTA et al., 2009). O produto deste gene protege os tecidos

contra o estresse oxidativo causado pela produção de radicais livres (MIAO; CLAIR, 2009). Além disso, suas alterações estão intimamente relacionadas a alterações imunológicas e inflamatórias, agudas ou crônicas. Na Figura 4 está apresentada a organização genômica dos três genes da SOD.

O polimorfismo Arg213Gli (rs1799895) no gene da SOD3 acontece pela substituição da arginina na posição 213 por glicina causando um aumento de 8 a 15 vezes na concentração de SOD3 no plasma níveis (ZELKO; MARIANI; FOLZ, 2002). Seus efeitos ainda não são totalmente claros.

**Figura 4** – Organização genômica dos três genes conhecidos das enzimas SOD em humanos.



**Legenda** – Superóxido Dismutase (SOD).

**Fonte** - Adaptada de Zelko, Mariani e Folz (2002)

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA

O estudo foi desenvolvido com corredores recreacionais adultos (19 a 50 anos), do sexo masculino, da cidade de João Pessoa. Como critérios de inclusão, os atletas deveriam ter no mínimo um ano de treinamento, com frequência semanal de cinco treinos, dos quais no mínimo três deveriam ser de corrida; estar treinando corrida há pelo menos três meses ininterruptamente na temporada e participar assiduamente das competições; não apresentar nenhuma doença crônica degenerativa, não ser tabagistas e não fazer uso contínuo de qualquer medicamento; não ter hábito de consumir regularmente vinho tinto ou suco de uva tinto, assim como suplementos alimentares, vitamínicos ou os que apresentassem as substâncias bioativas presentes na uva (polifenóis). Foram excluídos, os que sofreram lesões musculotendinosas, modificaram o padrão habitual de alimentação ou de treinamento físico, bem como, os que não consumiram a suplementação fornecida.

O tamanho amostral para o procedimento agudo foi calculado segundo Eng (2003) utilizando o software Gpower 3.1 (Franz Faul, Universitat Kiel, Germany) a partir do teste t para amostras pareadas. Para o estudo agudo considerou-se o resultado alcançado por 14 atletas no teste de desempenho físico, utilizou-se medida *post hoc*, representando um *effect size* moderado ( $d=0,30$ ) pelo teste de Cohen. Um mínimo de 12 participantes foi atribuído a cada grupo, considerando um erro  $\alpha$  de 0,05. Os atletas foram randomizados ([www.randomizer.org](http://www.randomizer.org)) para dois momentos, sendo um para suplementação com suco de uva integral e outro para placebo.

Para os efeitos crônicos considerou-se um aumento na atividade antioxidante de  $22,5 \pm 5,5$  para  $31,2 \pm 10,8$  percentual de inibição de radicais em resposta à suplementação com suco de uva tinto em atletas (TOSCANO et al., 2015). O mínimo de 14 participantes foi calculado para cada grupo, considerando erro  $\alpha$  de 0,05 e poder estatístico de 0,95. Ponderando que este tamanho amostral poderia não ser suficiente para formação de subgrupos de acordo com os genótipos, o estudo foi realizado com 30 atletas. Um grupo controle com 10 voluntários foi formado para previamente confirmar o efeito ergogênico do suco de uva sobre o desempenho físico.

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde/UFPB e em seguida pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa, sendo aprovado sob

parecer de nº 2.196.523 (Anexo A). Todos os participantes foram previamente esclarecidos quanto aos procedimentos aos quais seriam submetidos durante o estudo e solicitados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

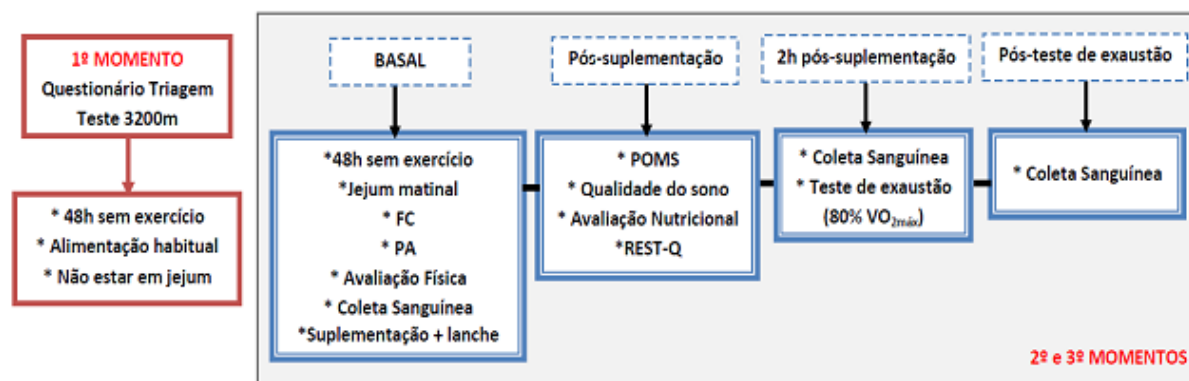
### 3.2 DESENHOS EXPERIMENTAIS DOS ESTUDOS

Os atletas foram testados para os efeitos agudos e crônicos da suplementação com suco de uva, como apresentado a seguir:

#### 3.2.1 Desenho dos procedimentos experimentais agudos

Para avaliação dos efeitos agudos, foi realizado um ensaio clínico, randomizado, duplo-cego, modelo *cross over* e placebo controlado, desenvolvido com 14 corredores recreacionais do sexo masculino ( $39 \pm 9$  anos;  $VO_2$  máx =  $55,9 \pm 6,5$  mL.kg.min). Inicialmente os atletas realizaram um teste de corrida de 3.200 metros (WELTMAN, 1987) para determinar a capacidade aeróbia e nas duas semanas posteriores, participaram dos procedimentos experimentais realizando dois testes de corrida até a exaustão e a suplementação (10 mL/kg/dia de suco de uva tinto integral ou bebida placebo), separados por sete dias. Após 48 horas sem treinamentos e pelo menos 10 horas em jejum os atletas foram submetidos à avaliação nutricional, do sono e de recuperação. Frequência cardíaca e percepção subjetiva de esforço foram acompanhadas a cada 10 minutos durante o teste de esforço. Pressão arterial foi medida no repouso e a cada 10 minutos após o protocolo de exercício. Foram realizadas coletas sanguíneas antes da ingestão do suco de uva ou bebida placebo, duas horas após a ingestão, e imediatamente após o teste até a exaustão, para posterior análise de biomarcadores de estresse oxidativo, inflamação e desgaste muscular. Como demonstrado na Figura 5.

**Figura 5** – Desenho experimental do estudo agudo.

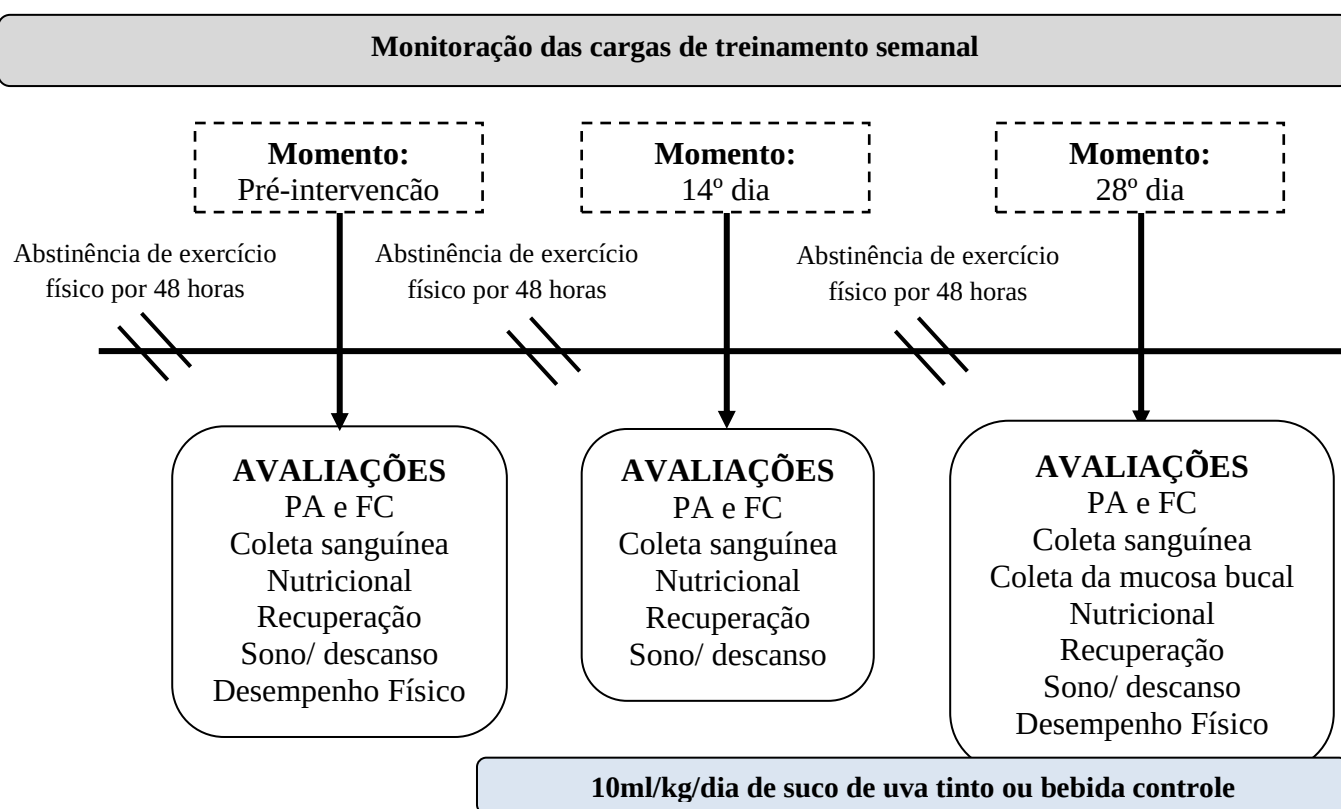


**Legenda** – Frequência Cardíaca (FC); Pressão Arterial (PA); *Profile of Moods State* (POMS); Questionário de Estresse e Recuperação para Atletas (REST-Q); Consumo máximo de oxigênio (VO<sub>2</sub>máx).

**Fonte** - Própria (2019)

### 3.2.2 Desenho dos procedimentos experimentais crônicos

O protocolo para estudo dos efeitos crônicos os corredores realizaram um protocolo de suplementação com uma dose (10 mL/kg/dia) de suco de uva tinto ou bebida controle, durante 28 dias. Na semana anterior à suplementação, os atletas realizaram um teste de ergoespirometria para avaliar a capacidade aeróbia. Posteriormente, após 48 horas sem treinamentos e 12 horas em jejum os atletas foram submetidos à coleta sanguínea, avaliação nutricional, do sono, humor e recuperação/descanso. As medidas de frequência cardíaca foram tomadas em repouso e a cada 10 minutos durante o teste de esforço, e a percepção subjetiva de esforço acompanhada nos mesmos momentos durante o teste. Tomadas as medidas iniciais, os atletas receberam um lanche padronizado após 30-45 minutos realizaram o teste de corrida até a exaustão. Antes da suplementação, 14 dias após e ao final deste protocolo, novas coletas sanguíneas foram realizadas para avaliação de estresse oxidativo, desgaste muscular e isolamento de leucócitos (basal e final). Uma coleta da mucosa bucal foi realizada juntamente com a última coleta sanguínea para posterior genotipagem do DNA para os polimorfismos selecionados. Ao final do estudo, o grupo experimental foi subdividido em função da genotipagem para as análises estatísticas. Como apresentado a seguir na figura 3.

**Figura 6** – Desenho experimental do estudo crônico.

**Legenda** – Pressão Arterial (PA); Frequência Cardíaca (FC).

**Fonte** - Própria, 2019.

### 3.3 AVALIAÇÃO GENÉTICA

#### 3.3.1 Extração de DNA da mucosa bucal e genotipagem

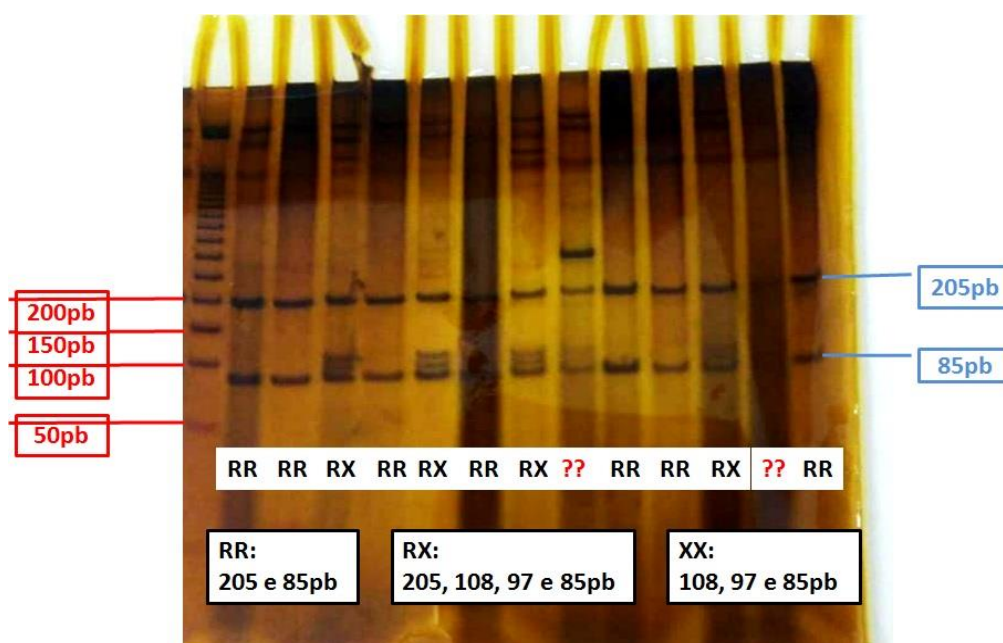
Amostras de células bucais foram coletadas por meio de bochecho, por 60 segundos de 5 ml de solução de sacarose a 3%. O conteúdo resultante do bochecho foi transferido para um tubo de 15 ml, adicionando logo em seguida 3ml de uma solução de TNE, contendo 17mM Tris-HCl com um pH 8,0, 50 mM NaCl e 7mM EDTA, diluída a 66% de álcool e água destilada autoclavada.

A cada tubo foi adicionada água destilada e deionizada autoclavada q.s.p. 15 ml. Após centrifugação e descarte do sobrenadante, o precipitado foi lavado em solução aquosa, contendo 17 mM Tris-HCl pH 8, 5 mM NaCl e 7 mM EDTA. Novamente o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspenso em solução de lise contendo 10 mM Tris-HCl pH



A mistura de PCR foi preparada contendo Taq DNA polimerase, MgCl<sub>2</sub>, tampão apropriado (GoTaq® Green, Master Mix, Promega), primer (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e água nuclease free, junto a amostra extraída. No termociclador, as amostras foram submetidas a ciclos de desnaturação, anelamento e extensão conforme indicado na literatura por Laddha (2015) para SOD3 Arg213Gli, Pishva et al. (2009) para PPAR $\alpha$  7G/C e Lucia et al. (2006) para ACTN3 R577X, demonstrado no quadro 3. A determinação dos polimorfismos foi realizada por meio da técnica de RFLP (*restriction length polymorphism*) que consiste em reconhecer os nucleotídeos por meio das enzimas de restrição específicas para cada gene. Foram utilizadas as enzimas MwoI, Taq<sup>q</sup>I e DdeI (New England Biolabs, Ipswich, MA, EUA) para os genes da SOD3, PPAR $\alpha$  e ACTN3, respectivamente. Para a realização da reação de digestão adicionou-se o produto amplificado ao mix (tampão 10X + enzima + H<sub>2</sub>O miliq autoclavada). A mistura foi conduzida ao banho seco a 60°C para MwoI, 65°C para Taq<sup>q</sup>I e 37°C para DdeI, por 3 horas. Para as leituras dos genótipos, utilizou-se eletroforese em gel de poliacrilamida na concentração de 15%. A revelação das bandas foi obtida pela técnica de coloração com nitrato de prata, apresentado como exemplo na Figura 7.

**Figura 7** – Gel de poliacrilamida a 15%, corado em nitrato de prata. Amostras do genótipo de alguns atletas, para ACTN3 R577X, após de digestão enzimática (DdeI).



**Legenda** – pb (pares de bases); RR, RX, XX (genótipos); ?? (genótipo não identificado/ amostra não aplicada). Na primeira coluna, da esquerda para a direita, está apresentado o marcador de peso molecular de 50 pb.

**Fonte** – Própria, 2019

### 3.4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

#### 3.4.1 Composição Corporal

Antes dos protocolos foram avaliadas medidas antropométricas para caracterizar o estado nutricional dos atletas, através do Índice de Massa Corporal (IMC) (QUÉTELET, 1870). Todas as medidas foram padronizadas conforme os parâmetros de avaliação física propostos por Petroski (2003).

No protocolo experimental para avaliar os efeitos agudos da suplementação foi medido 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. O percentual de gordura foi estimado com base na densidade corporal calculada pela equação de Jackson e Pollock (1978), para homens.

No protocolo experimental para avaliar os efeitos crônicos da suplementação utilizou-se o mesmo protocolo citado para medir a estatura. Para avaliação da composição corporal (IMC, massa magra, massa gorda) utilizou-se a bioimpedância (InBody 570 Biospace®, San Francisco, Califórnia, EUA) com medida direta segmentar multifrequência e sistema de eletrodos tetrapolar com oito pontos táteis. Para esta avaliação foi solicitado aos voluntários uma preparação: não praticar exercícios físicos nas 48h que antecedem a avaliação, estar em jejum por 12h, não fazer uso de bebidas cafeinadas e nem alcoólicas, nas 24h anteriores e não beber água na manhã da avaliação. Adicionalmente, foram avaliadas medidas de circunferência de cintura e quadril para acompanhar variações nos perímetros ao longo do período de suplementação e, em seguida avaliar condição de risco cardiovascular. Todas as medidas foram realizadas nos momentos basal e após 48h da última dose da suplementação.

### 3.4.2 Consumo Alimentar

No estudo agudo, as avaliações de consumo alimentar foram realizadas em três momentos: na avaliação inicial e nos dias dos testes experimentais. Essas medidas foram utilizadas para avaliar o consumo alimentar dos atletas a partir da quantidade de calorias, dos macronutrientes e dos micronutrientes considerados como mais antioxidantes (vitaminas A, C, D e E, cobre, selênio, zinco e manganês). Além disso, avaliou-se a alimentação do dia anterior aos testes experimentais para comparar a similaridade da ingestão em ambos os momentos, e assim minimizar o viés nutricional. No protocolo crônico, as avaliações quanto ao consumo alimentar foram realizadas nos momentos basal, 14 dias e final.

Para avaliar o consumo alimentar utilizou-se recordatórios alimentares de 24h, 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., 2018). Esse instrumento foi aplicado e avaliado por nutricionista treinado, utilizando-se o software Avanutri Revolution versão 4.0 (Avanutri Informática Ltda, Rio de Janeiro, Brasil). Juntamente aos recordatórios de 24 horas, foram questionados quanto à possíveis desconfortos gastrointestinais tais como, dor abdominal, inchaço, constipação, diarreia, azia, flatulência e náuseas. Os voluntários foram orientados a não ingerir qualquer suplemento esportivo e a não utilizar nenhum novo alimento ou substância rica em antioxidantes durante o estudo, a fim de assegurar a exclusão de quaisquer efeitos associados à alimentação sobre o procedimento experimental. Neste período eles foram orientados a manterem seus padrões alimentares habituais.

## 3.5 COLETA SANGUÍNEA E ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Amostras de 10 mL de sangue venoso foram coletadas em cada momento, sendo basal, 2h pós-suplementação e imediatamente pós-exercício, para o protocolo agudo e basal, 14 dias e 28 dias após a suplementação para o procedimento crônico. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3000rpm por 10 minutos para obtenção de soro ou plasma e transferidos para microtubos sendo refrigerados a -20°C até as análises. As coletas foram feitas sempre por

enfermeiras treinadas e em laboratório que dispõe do suporte adequado. Foram utilizados apenas produtos descartáveis.

*Balanço Redox:* atividade antioxidante foi avaliada a partir do método para capacidade antioxidante total (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995) e superóxido dismutase (SOD) por meio da inibição da auto-oxidação da adrenalina na presença de SOD (BOVERIS, 1984); peroxidação lipídica quantificada pelo malondialdeído – MDA por meio da reação do ácido tiobarbitúrico (TBARS) com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979). Carbonilação de proteínas pela oxidação de proteínas e formação de cetonas ou aldeídos reativos com 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) para formar hidrazonas (LEVINE et al., 1990). Para as análises de SOD e carbonilação de proteínas, realizou-se previamente a quantificação de proteínas de utilizando o método de Bradford (1976).

*Inflamação:* as concentrações plasmáticas de proteína-C reativa ultrasensível (PCR-us) e alfa-1-glicoproteína ácida foram quantificadas por imunoturbidimetria em amostras de soro. Tais concentrações foram determinadas por meio de kits comerciais específicos (Labtest, Belo Horizonte, Brasil) conforme instruções do fabricante. Para calibração da PCR-us foi utilizado o calibrador Calibra Plus PCR-ultra (Labtest: Ref-345) e para AGP utilizou-se o Calibra Plus Proteína (Labtest: Ref-346). Para ambos, a absorbância foi obtida no analisador automático Labmax 240 premium (Labtest, Belo Horizonte, Brasil) no comprimento de onda 540nm. e 340nm, respectivamente.

*Desgaste Muscular:* as concentrações plasmáticas de creatinaquinase foram quantificadas em modo cinético através do método UV-IFCC e as da enzima Lactato Desidrogenase foram quantificadas através do método Piruvato-Lactato em modo cinético, ambas por meio do kits comerciais (Labtest, Belo Horizonte, Brasil), lidas em comprimento de onda 340nm de absorbância no analisador automático Labmax 240 premium (Labtest, Belo Horizonte, Brasil), de acordo com as instruções do fabricante.

### 3.6 PROTOCOLOS DE EXERCÍCIO E TESTES DE DESEMPENHO FÍSICO

Antes de iniciar o protocolo agudo do estudo, os atletas realizaram um *washout* para exercício físico durante 48 horas antes, a fim de assegurar a exclusão de quaisquer efeitos associados ao treinamento prévio sobre o procedimento experimental. Para minimizar os

efeitos do dia sobre o desempenho físico na sessão, todos foram testados no mesmo período do dia, sempre pela manhã.

*Teste de 3200 de pista:* realizado uma semana antes do início do protocolo agudo para determinar a capacidade aeróbia máxima. Realizado individualmente com cada atleta, onde os mesmos percorriam oito voltas na raia de 400 metros de uma pista de atletismo oficial. Os atletas foram instruídos a iniciar o teste à vontade e a completar o percurso de 3200 m no menor tempo possível. O tempo total de execução foi medido com um cronômetro e registrado pelo pesquisador responsável. O  $\text{VO}_2$  máx foi calculado usando a equação abaixo (WELTMAN, 1987):  $\text{VO}_2\text{máx (ml.kg}^{-1}\text{.min}^{-1}) = 118.4 - 4.774 \times (T)$ , onde T = tempo em minutos e fração decimal, ao completar os 3200 m.

*Teste de ergoespirometria:* foi realizado na semana anterior ao início da suplementação. Os participantes foram submetidos ao teste ergoespirométrico de corrida em esteira para determinação do limiar anaeróbio, ponto de compensação respiratório e  $\text{VO}_2$  pico. Utilizou-se o teste com aplicação de carga crescente em protocolo de rampa individualizado, utilizando a esteira ergométrica (GE T2100, Boston, EUA). O teste foi conduzido por um médico cardiologista, em ambiente com condições de temperatura e umidade adequadas, de acordo com as recomendações das Diretrizes do Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACSM, 2014). As cargas programadas para que os testes terminassem entre 6 e 12 minutos. Para controle da intensidade utilizou-se uma escala modificada (adaptada, BORG 1982) de percepção subjetiva esforço de 1 e 5, sendo 1=leve, 2=leve à moderado, 3=moderado, 4=cansativo, 5=exaustivo, onde os voluntários referiram a intensidade do esforço com sinais de mão. Para a mensuração dos gases expirados foi utilizado um medidor de gases Vmax Enconre 295 da Carefusion (San Diego, EUA), associado ao software Cardiosoft 6.51. Considerou-se como critérios para interrupção do teste, a percepção subjetiva de esforço, incapacidade de manter-se correndo na esteira, ausência de aumento da frequência cardíaca com elevação da intensidade, náusea, palidez excessiva e extrassístoles sequenciais.

*Teste de corrida até a exaustão:* no protocolo agudo foram realizados dois testes, na intensidade de 80% do  $\text{VO}_2\text{máx}$ , separados por uma semana. Para o desempenho físico em resposta ao protocolo crônico foi realizado um teste inicial e após 48h da última dose da suplementação, na mesma intensidade. Ambos foram realizados em esteira ergométrica (Movement LX 160 GII, São Paulo, Brasil) em ambiente com temperatura e umidade controladas. Em seguida, foi notificado o tempo total de execução (tempo de exaustão), determinado pela incapacidade de manter a velocidade de corrida determinada. Antes e a cada

10 minutos durante o teste de corrida até a exaustão foram avaliados a frequência cardíaca (Polar FT1, Kempele, Finlândia) e a percepção subjetiva de esforço (BORG, 1982).

*Monitoração das cargas de treinamento:* Os corredores seguiram o programa de treinamento previamente estabelecido pelo treinador para a temporada, não sendo modificada a rotina de treinos, apenas monitorada e as cargas avaliadas pelo pesquisador ao longo do período de intervenção. Os treinos foram monitorados pelo pesquisador, semanalmente, e os corredores orientados a registrarem diariamente na súmula fornecida as sessões de treino, além das competições, com a maior riqueza de detalhes. Os atletas foram orientados a manter seus treinamentos habituais, realizando no mínimo cinco treinos por semana, sendo pelo menos três treinos de corrida e dois dias de atividades complementares (pilates, musculação, ciclismo, natação, entre outras).

### 3.7 CARACTERIZAÇÃO DAS BEBIDAS E PROTOCOLOS DE SUPLEMENTAÇÃO

Para os estudos, utilizou-se o suco de uva tinto, integral e natural. De acordo com as vinícolas, para a produção de 1 litro do suco de uva foi necessário aproximadamente 1,8 kg de uvas roxas. Segundo os fabricantes, 200 mL dos sucos de uva Garibaldi (Garibaldi, Serra Gaúcha, Brasil) e Nova Aliança (Flores da Cunha, Rio Grande do Sul, Brasil) contém 130 kcal e 32 g de carboidratos, e 140 kcal e 33g carboidratos, respectivamente. Enquanto a bebida placebo à base de uvas possui 140 kcal e 33 g de carboidratos. Não contêm quantidades significativas de proteínas, gorduras, fibra alimentar ou sódio.

Os produtos foram avaliados pelo Laboratório de Enologia da Embrapa Semiárido (Petrolina, Pernambuco, Brasil), para as características físico-químicas, atividade antioxidante e quantificação de compostos fenólicos, em triplicata. A composição antioxidante foi determinada pela atividade sequestradora de radicais livres usando DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995) e ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid) (MILLER et al., 1993; RUFINO et al., 2010), enquanto, o conteúdo fenólico total foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Folin-Ciocateau (ROSSI; SINGLENTON, 1965). Estas características antioxidantes podem ser observadas a seguir, na Tabela 1.

**Tabela 1** - Características antioxidantes dos sucos de uva e da bebida placebo utilizados para a suplementação nos protocolos agudo e crônico.

|                                        | <b>GARIBALDI</b> | <b>ALIANÇA</b> | <b>PLACEBO</b> |
|----------------------------------------|------------------|----------------|----------------|
| DPPH ( $\mu\text{Mol EAG. mL}^{-1}$ )  | 13,0             | 14,0           | 8,12           |
| ABTS (ATT $\mu\text{Mol Trolox/mL}$ )  | 9,55             | 8,54           | 0,50           |
| Fenólicos totais ( $\text{g.L}^{-1}$ ) | 3,10             | 2,76           | 0,94           |

DPPH – 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl; ABTS – 2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid; ND - não detectado. Dados obtidos a partir da média da análise em triplicata.

A quantificação dos compostos fenólicos (flavanois, flavonóis, ácidos fenólicos, antocianinas e estilbenos) foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) usando um sistema Waters 2695 Alliance (Milford, MA, EUA) equipado com um detector de matriz de diodos (DAD) e um detector de fluorescência (FLD) de acordo com o método validado pela EMBRAPA (NATIVIDADE et al., 2013). Foram encontrados 22 dos 29 padrões de compostos fenólicos disponíveis pela EMBRAPA Semiárido. De modo que, sete compostos não foram encontrados ou estavam abaixo dos limites de quantificação nos sucos avaliados, sendo todos da classe das antocianinas. Estes dados estão apresentados a seguir, na Tabela 2.

**Tabela 2** – Quantificação dos compostos fenólicos em miligramas/litro (mg/L) nos sucos de uva e bebida placebo.

| Flavanois (7)             |           |         |         | Flavonois (5)     |           |         |         |
|---------------------------|-----------|---------|---------|-------------------|-----------|---------|---------|
|                           | GARIBALDI | ALIANÇA | PLACEBO |                   | GARIBALDI | ALIANÇA | PLACEBO |
| Catequina                 | 1,4       | 1,9     | ND      | Caempferol        | 0,5       | 0,6     | ND      |
| Epicatequina Galato       | 1,0       | 1,1     | ND      | Isorhamnetina     | 0,7       | 0,9     | ND      |
| Epicatequina              | 1,3       | 1,5     | ND      | Isoquercetina     | 2,3       | 3,6     | ND      |
| Epigalatocatequina Galato | 1,9       | 2,1     | ND      | Rutina            | 0,7       | 0,9     | ND      |
| Procianida A2             | 0,7       | 0,7     | ND      | Miricetina        | 1,0       | 0,9     | ND      |
| Procianidina B1           | 2258      | 2848    | ND      |                   |           |         |         |
| Procianidina B2           | 4337      | 3573    | ND      |                   |           |         |         |
| Ácidos Fenólicos (7)      |           |         |         | Antocianinas (7)* |           |         |         |
|                           | GARIBALDI | ALIANÇA | PLACEBO |                   | GARIBALDI | ALIANÇA | PLACEBO |
| Ácido siríngico           | 0,3       | 0,3     | ND      | Malvina           | ND        | ND      | ND      |
| Ácido cumárico            | 3,5       | 6,3     | ND      | Oenina            | ND        | ND      | ND      |
| Ácido gálico              | 1592      | 2071    | ND      | Peonidina         | ND        | ND      | ND      |
| Ácido ferrúlico           | 0,8       | 0,8     | ND      | Calistefina       | ND        | ND      | ND      |
| Ácido cafeico             | 2699      | 4005    | ND      | Cianina           | ND        | ND      | ND      |
| Ácido caftárico           | 67,1      | 79,8    | ND      | Mirtalina         | ND        | ND      | ND      |
| Ácido clorogênico         | 8,4       | 12,4    | ND      | Curomanina        | ND        | ND      | ND      |
| Estilbenos (4)            |           |         |         |                   |           |         |         |
|                           | GARIBALDI | ALIANÇA | PLACEBO |                   |           |         |         |
| Trans-Resveratrol         | 0,5       | 0,5     | ND      |                   |           |         |         |
| Cis-Resveratrol           | 0,3       | 0,4     | ND      |                   |           |         |         |
| Piceatannol               | 0,5       | 0,6     | ND      |                   |           |         |         |
| Viniferina                | 0,7       | 0,7     | ND      |                   |           |         |         |

ND - não detectado. Dados obtidos a partir da média da análise em triplicata. \*Não foram encontradas antocianinas, de acordo com os padrões disponíveis pela EMBRAPA para quantificação.

No protocolo agudo utilizamos o suco produzido pela Cooperativa Vinícola Garibaldi (Garibaldi, Serra Gaúcha, Brasil) elaborado a partir as variedades de uvas Isabel, Bordô e Concord. A bebida placebo (Aliança Premier) foi um refresco de uva desenvolvido pela Vinícola Nova Aliança (Flores da Cunha, Rio Grande do Sul, Brasil) para fins específicos de pesquisa. Para o protocolo crônico foi utilizado o suco Nova Aliança produzido pela Vinícola Nova Aliança (Flores da Cunha, Rio Grande do Sul, Brasil). Os sucos de uva foram produzidos na safra de 2016, lote 2017, e avaliados quanto às características antioxidantes no ano de 2018.

### 3.7.1 Protocolo de suplementação aguda

Os participantes chegaram ao laboratório em jejum há pelo menos 10 horas e realizaram um desjejum padronizado composto por um sanduíche (50 g de pão integral + 34 g de queijo branco processado *light* = 152 kcal; 21,8g de carboidratos; 7,4g de proteínas; 3,6g de gordura; fibra: 4,0 g) e o suco de uva tinto ou a bebida placebo, de acordo com randomização prévia. Os atletas receberam 10 mL/ kg/ dia (O'BYRNE et al., 2002; TOSCANO et al., 2015) da suplementação duas horas antes do teste de corrida até a exaustão para que assim pudessem obter uma maior biodisponibilidade dos compostos polifenólicos presentes na bebida experimental (STALMACH et al., 2012). Voluntários e os pesquisadores envolvidos nos procedimentos experimentais foram cegados para a suplementação. Além disso, os produtos apresentavam cor e sabor similares, adicionalmente o valor calórico e a quantidade de carboidratos eram bastante semelhantes.

### 3.7.2 Protocolo de suplementação crônica

Todos os atletas foram suplementados com 10 ml/kg/dia de suco de uva subdividido nos momentos pré-treino e pós-treino, durante 28 dias de acordo com Toscano et al. (2015). Nos dias em que não havia treino a suplementação era consumida nos lanches, à escolha dos atletas. Os produtos foram entregues aos voluntários a cada 14 dias de intervenção, de modo que fosse realizada pelo menos uma visita durante o período de suplementação para entregar a quantidade suficiente para as duas semanas. Os participantes foram orientados quanto ao armazenamento e consumo dos produtos, recebidos em suas embalagens originais (garrafas vidro), juntamente com um medidor demarcando a quantidade a ser consumida diariamente. Foram convidados a preencher uma súmula simples, marcando com X os dias em que

consumissem o produto fornecido e deixando em branco os dias em que não o ingerisse. Para estimular a fidelização no consumo do produto fornecido, os pesquisadores realizavam ligações, enviavam emails, mensagem via SMS e/ou aplicativos de conversa para todos participantes que aceitassem.

### 3.8 AVALIAÇÃO SUBJETIVA DO ESTRESSE E RECUPERAÇÃO, SONO/ DESCANSO

Em um ambiente silencioso e climatizado, sem interferência externa, os atletas foram convidados e orientados a responderem três questionários, a fim de melhor caracterizar as condições prévias de estresse e repouso. Estes foram aplicados duas vezes com cada atleta, no estudo agudo e três vezes, para o estudo crônico. Sendo sempre antes de cada teste de exaustão ou nos momentos de repouso (14 dias).

O *Profile of Mood States* (POMS) (VIANA; ALMEIDA; SANTOS, 2001) para avaliar o estado psicométrico e a Perturbação Humoral Total (THD), *EPWORTH Sleepiness Scale-Brazilian* (ESS-BR) (BERTOLAZI et al. 2009) para avaliar a situações relacionadas à ocorrência de sonolência diurna e o Questionário de Stress e Recuperação para Atletas (RESTQ-Sport) (COSTA; SAMULSKI, 2005) para avaliar o estado de estresse e recuperação de situações cotidianas potencialmente estressantes e tranquilizantes. Adicionalmente, foram questionados quanto às horas de sono que costumavam dormir nos dias de semana e finais de semana, e ainda, se essas horas eram suficientes para descansar dentro de uma escala de nunca até sempre.

### 3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Normalidade e homogeneidade dos dados foram avaliadas usando os testes de Shapiro–Wilk e Levene, respectivamente, para todos os dados. Para os efeitos de uma única dose de suco os dados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados dos biomarcadores foram analisados usando uma ANOVA de duas vias para múltiplas comparações, com o *post hoc* de Tukey, quando apropriado. Para comparar os resultados do tempo até a exaustão, perfil nutricional, humor, qualidade do sono, recuperação/ estresse, percepção de esforço e biomarcadores basais foi utilizado um teste t para amostras pareadas. Além disso, uma análise individual (análise simples de sujeitos) foi realizada na variável

tempo de exaustão para identificar quantos atletas melhoraram seu desempenho. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos. Foi utilizado o GraphPad Prism 7.0 (San Diego, Califórnia, EUA).

Para o estudo crônico, os dados estão apresentados como média e erro padrão da média. Inicialmente, os efeitos do suco de uva sobre o desempenho físico e balanço redox dos corredores foram testados por meio da comparação entre o delta variação dos grupos suco de uva e controle. Em seguida, as análises foram realizadas apenas para o grupo experimental, sendo este grupo subdividido de acordo com o genótipo, considerando a presença ou ausência do alelo com a característica para o polimorfismo. Para o polimorfismo SOD3 Ag213Gli os atletas foram divididos pela presença do alelo G ou genótipo CC, e para o polimorfismo PPAR $\alpha$  7G/C, pela presença do alelo C ou genótipo GG. Para comparar as diferenças entre os deltas absolutos, em todos estes casos, utilizou-se teste t independente para os dados paramétricos ou seu correspondente não paramétrico, por meio do pacote estatístico SPSS, versão 24.0, considerando significativo  $p < 0,05$ . Finalmente, foi calculado o *effect size* por meio do teste de Cohen (d) para amostras independentes utilizando o GPower Statistics 3.1 e classificado de acordo COOK, COOK, THERRIEN (2018) em pequeno ( $d = 0.00 - 0.40$ ), médio ( $d = 0.50 - 0.70$ ), grande ( $d = 0.80 - 1.00$ ) ou muito grande ( $d \geq 1.30$ ).

## 4 RESULTADOS

Os resultados desta tese estão apresentados na forma de dois artigos originais disponíveis nos apêndices A e B. Os demais resultados gerados darão origem a outros artigos.

O artigo apresentado no apêndice A (*A single dose of purple grape juice improves physical performance and antioxidant activity in runners: a randomized, crossover, double-blind, placebo study*) aborda os efeitos de uma única dose de suco de uva tinto sobre o desempenho físico, estresse oxidativo, inflamação e desgaste muscular em corredores recreacionais. Como principais achados observou-se que quando os atletas foram suplementados com uma única dose do suco de uva tinto apresentaram maior tempo de corrida até a exaustão quando comparados a um grupo placebo ( $59,2 \pm 27,8$  x  $68,4 \pm 29,7$  minutos;  $p = 0,008$ ), acompanhado por um aumento de 43,6% ( $p = 0,000$ ) na capacidade antioxidante total no momento pós-exercício.

O artigo apresentado no apêndice B (Influência dos polimorfismos SOD3 ARG213GLI e PPAR $\alpha$  7G/C sobre os efeitos ergogênicos do suco de uva tinto) aborda a participação dos polimorfismos SOD3 Arg213Gli e PPAR $\alpha$  7G/C nos efeitos da suplementação com suco de uva tinto sobre o desempenho físico e estresse oxidativo em corredores recreacionais. Como principais achados observou-se que o suco de uva melhorou o tempo de exaustão em  $9,2 \pm 2,6$  minutos, independente da característica genética. Entretanto, os atletas que apresentavam genótipo GG para o polimorfismo 7G/C no gene PPAR $\alpha$  tiveram piora do tempo ( $-0,3 \pm 1,8$  minutos). O gene da SOD3 revelou apenas uma tendência de melhor desempenho para os atletas com genótipo CC ( $p=0,06$ ). Os biomarcadores avaliados não se mostraram influenciados por um genótipo específico.

## REFERÊNCIAS

- ABE, L.T., et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.
- ACMS - AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Diretrizes do ACSM para os testes de esforço e prescrição de exercícios. 9ª ed: Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2014.
- AHMETOV et al. PPAR $\alpha$  gene variation and physical performance in Russian athletes. **European Journal of Applied Physiology**, v. 97, p. 103–108, 2006.
- AHMETOV, I. I. ; FEDOTOVSKAYA, O. N. Current Progress in Sports Genomics. *Advances in Clinical Chemistry*, v. 70, p. 247-314, 2015.
- AHMETOV, I. I. et al. The combined impact of metabolic gene polymorphisms on elite endurance athlete status and related phenotypes. **Human Genetics**, v. 126, p.751–761, 2009.
- AIDAR, M.; LINE, S.R. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. **Brazilian Dental Journal**, v 18, n 2, p. 148 – 152, 2007.
- ALI, K., MALTESE, F., CHOI, Y.; VERPOORTE, R. Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. **Phytochemistry Reviews**,v. 9, n.3, p. 357-378, 2010.
- BELVIRANLI, M. et al. Effects of grape seed extract supplementation on exercise-induced oxidative stress in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n.2, p. 249-256, 2012.
- BERTOLAZI, A.N et al. Validação da escala de sonolência de Epworth em português para uso no Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.35, p. 877-883, 2009.
- BORG, G.A . Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.14, p. 377–381, 1982.
- BOVERIS A. Determination of the production of superoxide radicals and hydrogen peroxide in mitochondria. **Methods Enzymology**, v.105, p. 429-435, 1984.
- BRAAKHUIS, A. J.; HOPKINS, W. G.; LOWE, T. E. Effects of dietary antioxidants on training and performance in female runners. **European Journal of Sport Science**, v.14, n.2, p.160-168, 2013.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology Lebensmittel-Wissenschaft e Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CALÒ C.M.; VONA, G. Gene polymorphisms and elite athletic performance. **Journal of Anthropological Sciences**, v.86, p. 113-131, 2008.

CAVALCANTE I.G. M. et al. Effect of vitamin D3 supplementation and influence of BsmI polymorphism of the VDR gene of the inflammatory profile and oxidative stress in elderly women with vitamin D insufficiency: Vitamin D3 megadose reduces inflammatory markers. **Experimental Gerontology**. v.66, p.10-16, 2015.

CHEUNG, V. G. et al. Mapping determinants of human gene expression by regional and genome-wide association. **Nature**, v. 437, n. 7063, p.1365–1369, 2005.

CHO, M.R.; HAN, J.H.; LEE, H.J.; PARK, Y.K.; KANG, M.H. Purple grape juice supplementation in smokers and antioxidant status according to different types of GST polymorphisms. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v.56, n.1, p.49-56, 2015.

CLARKSON, P. M. et al. ACTN3 genotype is associated with increases in muscle strength in response to resistance training in women. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, p. 154–163, 2005.

COOK, B.G.; COOK, L.; THERRIEN, W. J. Group-Difference Effect Sizes: Gauging the Practical Importance of Findings from Group-Experimental Research. **Learning Disabilities Research and Practice**, v. 00, n.0, p. 1-8, 2018.

COSTA, L. O. P.; SAMULSKI, D. M. Processo de validação do questionário de estresse e recuperação para atletas (RESTQ-Sport) na língua portuguesa. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, p. 79-86, 2005.

DALLA CORTE, C.L., et al. Antioxidant effect of organic purple grape juice on exhaustive exercise. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 38, n. 5, p. 558-565, 2013.

DAL-ROS, S., et al. Chronic intake of red wine polyphenols by young rats prevents aging-induced endothelial dysfunction and decline in physical performance: role of NADPH oxidase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 404, n. 2, p.743-9, 2011.

DANI, C., et al. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically or conventionally produced grapes. **Food and Chemical Toxicology**, v.45, n.12, p.2574-2580, 2007.

DELEY, G et al. An Acute Dose of Specific Grape and Apple Polyphenols Improves Endurance Performance: A Randomized, Crossover, Double-Blind versus Placebo Controlled Study. **Nutrients**, v. 9, p. 917, 2017.

DIAS, R. G. et al. Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n.3, p. 209-216, 2007.

DONG, X et al. SOD3 and eNOS genotypes are associated with SOD activity and NO<sub>x</sub>. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v.8, p. 328-334, 2014.

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

EYNON, N. et al. Genes for Elite Power and Sprint Performance: ACTN3 Leads the Way. **Sports Medicine**, v. 43, n. 9, p. 803-817, 2013.

FLAMINI R., et al. Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n.10, p.19651-1969, 2013.

FARACI FM, DIDION, S.P. Vascular protection: superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** v.24, n.8, p. 1367-73, 2004.

FUJII, T. M. M.; MEDEIROS, R.; YAMADA, R. Nutrigenômica e nutrigenética: importantes conceitos para a ciência da nutrição. **Nutrire**, v. 35, n. 1, p. 149-166, 2010.

FULEKI, T.; RICARDO-DA-SILVA, J.M. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.3, p.640-646, 2003.

GEORGIEV, V.; ANANGA, A.; TSOLOVA, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**, v.6, n.1, p.391-415, 2014.

GIBSON, R. S. Food consumption of individuals. In: **Principles of nutritional assesement**. New York: Oxford University Press, 1990.

GIOVINAZZO, G.; GRIECO. Functional Properties of Grape and Wine Polyphenols. **Plant Foods for Human Nutrition**, n. 70, p. 454-62, 2015.

GOLDSTEIN, D.B.; CAVALLERI, G.L. GENOMICS - Understanding human diversity. **Nature**, v. 437, n.27, 2005.

GONÇALVES, M.C et al. Organic grape juice intake improves functional capillary density and postocclusive reactive hyperemia in triathletes. **Clinics**, v. 66, n. 9, p. 1537-1541, 2011.

HOGARTH, M. W. et al. Analysis of the ACTN3 heterozygous genotype suggests that  $\alpha$ -actinin-3 controls sarcomeric composition and muscle function in a dose-dependent fashion. **Human Molecular Genetics**, v. 25, n. 5, p. 866-77, 2016.

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.

INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE - OIV. **World Viticultural Statistics 2010-2011**. Ed 18ª: Paris, 2014.

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

JACOB, Y. et al. The Potential Role of Genetic Markers in Talent Identification and Athlete Assessment in Elite Sport. **Sports**, v. 6, n. 3, p. 88, 2018.

JANIKUES, A.G., et al. Effects of grape powder supplementation on inflammatory and antioxidant markers in hemodialysis patients: a randomized double-blind study. **Journal Brasileiro de Nefrologia**, v.36, n.4, p.496-501, 2014.

KHAN, N.; ADHAMI, V.M.; MUKHTAR, H. Apoptosis by dietary agents for prevention and treatment of prostate cancer. **Endocrine-Related Cancer**, v.17, n.1, p.39-52, 2010.

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

KERKSICK, C. M. et al. ISSN exercise and sport nutrition review: research and recommendations. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.7, n.7, p. 1-43, 2018.

KHADEM-ANSARI, M.H.; RASMI, Y.; RAMEZANI, F. Effects of red grape juice consumption on high density lipoprotein-cholesterol, apolipoprotein AI, apolipoprotein B and homocysteine in healthy human volunteers. **The Open Biochemistry Journal**, v.4, p. 96 - 99, 2010.

KIM H.; SONG, K.H.; KIMC. H. The ACTN3 R577X variant in sprint and strength performance, **Journal of exercise nutrition and biochemistry**, v.18, n. 4, p.347-353, 2014.

KRIKORIAN, R., et al. Concord grape juice supplementation improves memory function in older adults with mild cognitive impairment. **British Journal of Nutrition**, v.103, n.5, p.730-734, 2010.

KRIKORIAN, R. et al. Concord Grape Juice Supplementation and Neurocognitive Function in Human Aging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 5736–5742, 2012.

LABONTÉ, K. et al. Acute Effects of Polyphenols from Cranberries and Grape Seeds on Endothelial Function and Performance in Elite Athletes. **Sports**, v. 1, p. 55-68, 2013.

LADDHA, N. C. **Role of superoxide dismutases tumor necrosis factor-a and-b vitiligo susceptibility**. Tese de Doutorado, capítulo VI, 2015. Disponível em: <http://localhost:8080/xmlui/handle/1/844>

LAFAY, S., et al. Grape extract improves antioxidant status and physical performance in elite male athletes. **Journal of Sports Science and Medicine**, v.8, n.3, p.468-480, 2009.

LEVINE et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymology**, v. 186, p.464-78, 1990.

LI, L.; SUN, B. Grape and wine polymeric polyphenols: Their importance in enology, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n.4, p.563-579, 2017.

LIEBERMAN, J. A. et al. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. **New England Journal of Medicine**, v. 353, p. 1209–1223, 2005.

- LIFANOV A.D., et al.. Influence of the GPX1 gene polymorphism to aerobic capacity and efficiency of glutathione supplementation in athletes. **Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova**, v. 100, n. 2, p.248-55, 2014 a.
- LIFANOV A.D. et al. Effect of creatine supplementation on physical performance are related to the AMPD1 and PPARG genes polymorphisms in football players. **Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova**, v.100, n. 6, p.767-76, 2014 b.
- LUCIA, A. et al. ACTN3 genotype in professional endurance cyclists. **International Journal of Sports Medicine**, v. 27, p. 880–884, 2006.
- MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. A gene for speed? The evolution and function of alpha-actinin-3. **Bioessays**, v. 26, n. 7, p. 786-795, 2004.
- MACIEJEWSKA A.; SAWCZUK M.; CIESZCZYK P. Variation in the PPAR $\alpha$  gene in Polish rowers **Journal of Science and Medicine in Sport** v.14, p. 58–64, 2011.
- MACIEJEWSKA-KARLOWSKA A. et al. Association between the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene and strength athlete status. **PLoS One**, v. 8, n. 6, e67172, 2013.
- MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2017. Comunicado Técnico 207 - Embrapa Uva e Vinho**, Bento Gonçalves-RS, 2018.
- MELLO, L.M.R. União Brasileira de Vitivinicultura – UVIBRA, Instituto Brasileiro do Vinho – IBRAVIN. **Comunicado Técnico 157 - Embrapa Uva e Vinho**. Atuação do Brasil no Mercado Vitivinícola Mundial: Panorama 2013, Bento Gonçalves-RS, 2014.
- MEYERS, B.M; CAFARELLI, E. Caffeine increases time to fatigue by maintaining force and not by altering firing rates during submaximal isometric contractions. **Journal of Applied Physiology**, v.99, p.1056-1063, 2005.
- MIAO L; CLAIR DK. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v.47, n.4, p.344-56, 2009.
- MILLER, N.J et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84, p. 407-412, 1993.
- MINEGISHI, Y., et al. Red grape leaf extract improves endurance capacity by facilitating fatty acid utilization in skeletal muscle in mice. **European Journal of Applied Physiology**, v.111, n.9, p.1983-1989, 2011.
- MIRANDA NETO, M. et al. Whole Red Grape Juice Reduces Blood Pressure at Rest and Increases Post-exercise Hypotension. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–8, 2017.
- MIRANDA-VILELA, A. L. Exercise, injuries and athlete performance. **Athlete Performance and Injuries**, p. 1–50, 2012.

- 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.
- MUTCH, D. M.; WAHLI, W.; WILLIANSO, G. Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition. **The FASEB Journal**, v. 19, n. 12, p. 1602-1616, 2005.
- NATIVIDADE, M. M. P, et al. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. **Microchemical Journal**, v.110, p. 665–674, 2013.
- O'BYRNE, D.J. et al. Comparison of the antioxidant effects of Concord grape juice flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, n.6, p.1367-1374, 2012.
- O'CONNOR, P.J., et al. Grape Consumption's Effects on Fitness, Muscle Injury, Mood, and Perceived Health. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 23, n. 1, p. 57-64, 2013.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analyt Biochem.**, v. 95, p. 351-358, 1979.
- OSTRANDER, E.A.; HUSON, H.J.; OSTRANDER, G.K. Genetics of Athletic Performance Genetics of Athletic. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 10, p: 407-429, 2009.
- ÖZCAN, M.M.et al. Effect of harvest time on physico-chemical properties and bioactive compounds of pulp and seeds of grape varieties. **J Food Sci Technol**, v.54, n.8, p.2230-2240, 2017.
- PAPADIMITRIOU, I. D. et al. No association between ACTN3 R577X and ACE I/D polymorphisms and endurance running times in 698 Caucasian athletes. **BMC Genomics**, v. 19, n. 13, 2018.
- PASTRANA-BONILLA, E.; AKOH, C.C.; SELLAPPAN, S.; KREWER, G. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. **J Agric Food Chem.** v. 51, n. 18, p. 5497-503, 2003.
- PEDERSEN, N. L.; POSNER, S. F.; GATZ, M. Multiple-threshold models for genetic influences on age of onset for Alzheimer disease: Findings in Swedish twins. **American Journal of Medical Genetics**, v. 105, n. 8, p. 724-728, 2001.
- PETROSKI, E. L. **Antropometria: técnicas e padronizações**. 2ªed: Porto Alegre, Pallotti, 2003.
- PISHVA, H et al. Association between the FABP2 Ala54Thr, PPAR $\alpha$  Leu162/Val, and PPAR $\alpha$  intron7 polymorphisms and blood lipids ApoB and ApoCIII in hypertriglyceridemic subjects in Tehran. **Journal of Clinical Lipidology**, v.3, p. 187–194, 2009.

PRASAD, C.; IMRHAN, I.; REW, M. Introducing Nutritional Genomics Teaching in Undergraduate Dietetic Curricula. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 4, p. 65–172, 2011.

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

RANKINEN, T. et al. No Evidence of a Common DNA Variant Profile Specific to World Class Endurance Athletes. **PLoS ONE**, v. 11, n.1, e0147330, 2016.

RASINES-PEREA, Z.; TEISSEDE, P. L. Grape polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. **Molecules**, v. 22, n.68, p.1-19, 2017.

RIBEIRO, I.F., et al. The influence of erythropoietin (EPO T → G) and  $\alpha$ -actinin-3 (ACTN3 R577X) polymorphisms on runners responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi oil (Caryocar brasiliense Camb.): a before-after study. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v 6, n 6, p.283-304, 2013.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Suco de Uva**. Coleção Agroindústria Familiar. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília, p.50. 2007

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

ROSSI, J.A.; SINGLETON, V.L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 44-158, 1965.

ROSTA, K. et al. Association of extracellular superoxide dismutase (SOD3) Ala40Thr gene polymorphism with pre-eclampsia complicated by severe fetal growth restriction, **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, v.142, p. 134–138, 2009.

RUFINO, M. S. M et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p. 996–1002, 2010.

RUSSEL A.P., et al. Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in skeletal muscle. **Diabetes**, v.52, p. 2874-2881, 2003.

SCHAFER, A.; HAWKINS J.R. DNA variation and the future of human genetics. **Nature Biotechnology**, v. 16, p.33-39, 1998.

SILVA, W.V., et al. Supplementation prevalence and adverse effects in physical exercise practitioners. **Nutrición Hospitalaria**, v.29, n.1, p.158-165, 2014.

SILVESTRE et al. Efeito agudo da ingestão de concentrado de uva sobre os biomarcadores do estresse oxidativo em triatletas. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 16, n. 5, p. 533-544, 2014.

- 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.
- STALMACH, A et al. Gastrointestinal stability and bioavailability of (poly) phenolic compounds following ingestion of Concord grape juice by humans. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 56, p. 497–509, 2012.
- SULLIVAN, P. F.; KENDLER, K.S.; NEALE, M. C. Evidence from a Meta-analysis of Twin Studies. **Archives Of General Psychiatry**, v. 60, n.12, p.1187-1192, 2003.
- TAGHIZADEH et al. Grape Seed Extract Supplementation and the Effects on the Biomarkers of Oxidative Stress and Metabolic Profiles in Female Volleyball Players: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Clinical Trial. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 18, n. 9, 2016.
- TOALDO, I.M et al. Bioactive potential of Vitis labrusca L. grape juices from the Southern Region of Brazil: phenolic and elemental composition and effect on lipid peroxidation in healthy subjects. **Food Chemistry**, v. 173, p. 527-35, 2016.
- TOSCANO, L.T., et al. Potential ergogenic activity of grape juice in runners. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 40, p.1 – 8, 2015.
- TOSCANO, L.T., et al. Phenolics from purple grape juice increase serum antioxidant status and improve lipid profile and blood pressure in healthy adults under intense physical training **Journal of Functional Foods** v. 33, p. 419–424, 2017.
- TSITSIMPIKOU, C., et al. Administration of tomato juice ameliorates lactate dehydrogenase and creatinine kinase responses to anaerobic training. **Food and Chemical Toxicology**, v. 12, p. S0278-6915, 2013.
- TUCKER, J. et al. Unapproved Pharmaceutical Ingredients Included in Dietary Supplements Associated With US Food and Drug Administration Warnings. **JAMA Network Open**, v.1, n.6, 2018.
- TYAGI, S. et al. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, v. 2, n. 4, p. 236-240, 2011.
- VANCINI, R. L. et al. Genetic aspects of athletic performance: the African runners phenomenon. **Open Access J Sports Medicine**, v. 5, p.123–127, 2014.
- VESKOUKIS, A.S., et al. The antioxidant effects of a polyphenol-rich grape pomace extract in vitro do not correspond in vivo using exercise as an oxidant stimulus. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p.1-14, 2012.
- 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, p. 77-92, 2001.

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, p. 401-406, 1987.

WOMACK C.J., et al.. The influence of a CYP1A2 polymorphism on the ergogenic effects of caffeine. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.15, n.9, p.1-7. 2012

XIA, E., DENG, G.; GUO, Y.; LI, H. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, n.2, p. 622–646, 2010.

XIANCHU, L. et al. Grape seed proanthocyanidin extract supplementation affects exhaustive exercise-induced fatigue in mice. **Food and Nutrition Research** v. 62, p.1-7, 2018.

YANG, G., et al. Grape seed extract improves epithelial structure and suppresses inflammation in ileum of IL-10-deficient mice. **Food and Function**, v.5, n.10, p.2558-2563, 2014.

ZELKO, I.; MARIANI, T.; FOLZ, R. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 33, n. 3, p. 337–349, 2002.

ZHANG, W. et al. Consumption of oxidized oil increases oxidative stress in broilers and affects the quality of breast meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 969-74, 2011.

ZHANG, L. et al. Recovery of dietary fiber and polyphenol from grape juice pomace and evaluation of their functional properties and polyphenol compositions. **Journal of Functional Foods** , v. 8, n. 1, p. 341-351, 2017.

## **APÊNDICES**

**APÊNDICE A - ARTIGO 1**

**A SINGLE DOSE OF PURPLE GRAPE JUICE IMPROVES PHYSICAL PERFORMANCE AND  
ANTIOXIDANT ACTIVITY IN RUNNERS: a randomized, crossover, double-blind, placebo study**

**Periódico:** EUROPEAN JOURNAL OF NUTRITION

**ISSN:** 1436-6207

**Qualis:** A1 na área de Nutrição (Classificação de periódicos no quadriênio 2013-2016)

**Fator de Impacto:** 4.4

# **A single dose of purple grape juice improves physical performance and antioxidant activity in runners: a randomized, crossover, double-blind, placebo study**

Lydiane de Lima Tavares Toscano<sup>1,2</sup> (0000-0003-0020-6220), Alexandre Sérgio Silva<sup>1,2</sup> (0000-0003-3576-9023), Ana Carla Lima de França<sup>1,2</sup> (0000-0001-8681-2824), Bruno Rafael Virgínio de Sousa<sup>1,2</sup> (0000-0003-2026-5025), Eder Jackson Bezerra de Almeida Filho<sup>2</sup> (0000-0003-4842-9773), Matheus da Silveira Costa<sup>1,2</sup> (0000-0002-1723-7317), Aline Telles Biasoto Marques<sup>3</sup> (0000-0002-2424-2384), Darcilene Fiuza da Silva<sup>4</sup> (0000-0001-8972-7879), Klécia de Farias Sena<sup>2</sup> (0000-0002-6401-2698), Gilberto Santos Cerqueira<sup>5</sup> (0000-0001-6717-3772), Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves<sup>1</sup> (0000-0001-7223-8470)

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Paraíba, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e a Saúde, Departamento de Educação Física, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Paraíba, Brazil.

<sup>3</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brazil.

<sup>4</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brazil.

<sup>5</sup> Departamento de Morfologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

## **Abstract**

**Purpose** To investigate the effects of a single dose of juice on physical performance, oxidative stress, inflammation and muscle damage in runners.

**Methods** Fourteen recreational male runners ( $39 \pm 9$  years,  $VO_{2peak} = 55.9 \pm 6.5$  ml/kg/min) performed two running tests to exhaustion at 80% of  $VO_{2max}$  after ingesting grape juice or a placebo drink (10 ml/kg/day) randomly. Blood samples were taken before and two hours after supplementation and immediately after running to analyze total antioxidant capacity (TAC), malondialdehyde (MDA), alpha-1 acid glycoprotein (A1GPA), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH).

**Results** The participants ran for an average of  $59.2 \pm 27.8$  minutes until exhaustion in the placebo group and for  $68.4 \pm 29.7$  minutes until exhaustion in the grape juice intake group, which was a significantly longer time ( $p = 0.008$ ). This improvement in physical performance was accompanied by a 43.6% increase in TAC ( $p = 0.000$ ) at the post-exercise timepoint compared to the level at baseline. MDA, A1GPA, hs-CRP, CK, and LDH did not exhibit changes. In contrast, no significant change in any variable was observed after consuming the placebo drink.

**Conclusion** The single-dose intake of purple grape juice demonstrated an ergogenic effect in recreational runners by increasing run time to exhaustion and increasing antioxidant activity.

**Keywords** Polyphenols; Ergogenic substances; Sports nutrition; Athletic performance; Oxidative stress

\* Corresponding author:

Alexandre Sérgio Silva,

Laboratório de Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e a Saúde, Departamento de Educação Física, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Centro de Ciências da Saúde, Campus I, Cidade Universitária, CEP 58059-900, João Pessoa - PB, Brazil. Telephone: +55 83 9 8875-4675/ 3216-7030

Email: alexandresergiosilva@yahoo.com.br

## Introduction

Purple grapes and their derivatives have been recognized as foods that have beneficial effects on blood pressure [1], vascular density [2], neurocognitive function [3] and lipoprotein metabolism [4]. In addition, purple grapes are able to protect against oxidative stress induced by both diseases [5] and strenuous exercise [6]. This protective effect has been attributed to purple grape juice because it is rich in antioxidants such as flavonoids (flavonols, flavonoids and anthocyanins) and nonflavonoids (phenolic acids and resveratrol) [7].

Cardiometabolic benefits of purple grapes have been expanded to the athletic context. In animal models, grape products promoted improvements in physical performance [8-10], antioxidant protection [11, 12] and anti-inflammation [10]. In a previous study in our laboratory, purple grape juice ingestion (10 mL/kg/day for 28 days) promoted a 15% increase in time to exhaustion in a running test, which was accompanied by increased antioxidant activity and reduced inflammation in recreational runners [13]. In the athletic context, this improvement in physical performance is relevant.

While in the previous study the ergogenic effect was observed after almost a month of nutritional intervention, there is evidence indicating that single doses of various foods, such as polyphenols [14-17], beetroot juice [18] and chocolate milk [19], promoted improved athletic performance. In addition, single dose supplementation with a polyphenol-rich extract (green tea, grape and pomegranate) [17], dark chocolate [20] and antioxidant ice cream (dark cocoa powder, hazelnut and green tea extracts) [21] was able to improve oxidative stress biomarkers.

Based on this evidence, we investigated the acute ergogenic effect of purple grape juice on recreational runners, testing the hypothesis that ingestion of a single dose of grape juice may be sufficient to promote improvement in physical performance, an effect that was previously demonstrated when grape juice was chronically administered [13].

The objective of this study was to investigate the effects of the intake of a single dose of purple grape juice on physical performance, oxidative stress, inflammation and muscular fatigue in male recreational runners submitted to a running session until exhaustion.

## Methods

### Study type and participants

A double-blind, crossover, randomized, placebo-controlled clinical trial was conducted with 14 male recreational runners. The sample size was established a posteriori; the effect size was calculated as  $d = 0.30$  by the Cohen test, which revealed 12 participants as the minimum sample size considering an  $\alpha$  error of 0.05 and a  $\beta$  error of 0.80. All the athletes performed the two procedures, one experimental and another control, in a randomized crossover model ([www.randomizer.org](http://www.randomizer.org)). This information is presented in the flowchart (Fig 1).

To participate in the study, athletes needed to have completed at least one year of training with a frequency of five training sessions per week (at least three sessions needed to be running) for at least two months without interruption, and the participants needed to be participating in competitions on a regular basis. The

participants did not have any chronic degenerative diseases, did not smoke, and did not chronically use any medication. In addition, the participants did not have the habit of consuming red wine, purple grape juice, dietary supplements, vitamins, or bioactive grape products (polyphenols) regularly. Athletes who suffered from skeletal muscle injuries during the study, those who changed their usual eating or physical training patterns, those who started drug therapy, and those who did not consume the proper amounts of products provided during the study period were excluded.

### [Fig 1]

## Experimental design

Initially, athletes performed a 3200-meter run test [22] to estimate aerobic capacity. In the following two weeks, they participated in the experimental procedures by performing the test run to exhaustion after supplementation (10 ml/ kg /day of whole grape juice) or the placebo drink, and the two tests were separated by a week. As demonstrated in fig 2, after 48 hours without training and overnight fast (10 hours) [23], the athletes were submitted to nutritional, sleep and recovery assessment. Blood samples were collected before the ingestion of the grape juice or placebo drink, two hours after ingestion, and immediately after the test run to exhaustion for further analysis of biomarkers of oxidative stress, inflammation and muscle injury.

### [Fig 2]

## Preparation of participants for procedures

Athletes were instructed to abstain from exercise for the 48 hours before the experimental sessions and performing overnight fast (10 hours). Were instructed not to ingest any nutritional supplement or antioxidant foods rich in grape polyphenols during the study. In addition, no alcoholic beverages were ingested in the preceding 24 hours, and caffeine was not consumed the night before the experiment to ensure the exclusion of any effects associated with diet. At six o'clock in the morning, after arriving at the laboratory, they were accommodated in a climatized room, and seated at rest for 10 minutes to measure heart rate, and then baseline blood collection was performed. Subsequently, the athletes consumed a standardized snack consisting of a sandwich (50 g of wheat bread + 34 g of white processed cheese = 152 kcal, 21.8 g of carbohydrates, 7.4 g of protein, 3.6 g fat, 4.0 g fiber) with the experimental or placebo beverage, according to previous randomization.

## Nutritional assessment

Body fat percent was assessed in accordance with the protocol described by Jackson and Pollock [24] for men using a clinical plicometer (Sanny, São Paulo, Brazil). Dietary intake throughout the study was evaluated by 24-hour dietary recall three times for each participant; two recalls corresponded to weekdays and the other represented a weekend day. Two of the dietary recalls were performed in the days prior to the experimental sessions. The average of the three dietary recalls was used to determine the nutritional profile. Other dietary recalls were applied to characterize the consumption in the 24 hours preceding the experimental tests (Avanutri®, Rio de Janeiro, Brazil). In addition, possible gastrointestinal discomforts such as abdominal pain, bloating, constipation, diarrhea, heartburn, flatulence and nausea were reported.

## Characterization of grape juice and the placebo drink

The experimental product used for the supplementation was purple grape juice of the Cooperativa Vinícola Garibaldi (Garibaldi, Serra Gaúcha, Brazil) produced from grapes of the Isabel, Bordeaux, and Concord (*Vitis labrusca*) varieties. This product was characterized as a natural, integral (100% fruit), non-alcoholic beverage with no added sugar, water, flavoring or preservatives, according to the manufacturer's information. The placebo drink (Aliança Premier) was a grape refreshment developed by Vinícola Nova Aliança (Flores da Cunha, Rio Grande do Sul, Brazil) for specific research purposes. According to the producer, 200 mL of the grape juice contains 130 kcal and 32 g of carbohydrates, while the placebo drink has 140 kcal and 33 g of carbohydrates. They do not contain significant amounts of proteins, total fats, saturated fats, trans fats, dietary fiber or sodium. Beverages were isovolumetric with similar caloric values and amounts of carbohydrates.

Samples of grape juice and the placebo beverage were sent to the Embrapa Semiarid Laboratory of Enology (Petrolina, Pernambuco, Brazil) and evaluated in triplicate. The antioxidant composition was determined by free radical scavenging activities using DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) [25] and ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid) [26, 27], while the total phenolic content was determined according to the methodology described by Folin-Ciocateau [28]. Quantification of the phenolic compounds (flavonoids, flavonols, phenolic acids and stilbenes) was performed by high-performance liquid chromatography (HPLC) using a Waters 2695 Alliance system (Milford, MA, USA) equipped with a diode array detector (DAD) and a fluorescence detector (FLD) according to a method validated by EMBRAPA.

## Supplementation protocol

The athletes received 10 ml/kg/day [13] of the supplement two hours before the run test until exhaustion so that they could increase the bioavailability of the polyphenolic compounds present in the experimental drink [29]. The volunteers and researchers involved in the procedures were blinded to supplementation. The experimental juice and placebo beverage had similar colors and flavors, as well as similar caloric values and carbohydrate contents.

### **Aerobic capacity test (3200 m)**

Maximum aerobic capacity was determined by means of the 3200-meter run test. The test was performed individually for each athlete; they ran eight laps around a 400-meter official athletics track. The athletes were instructed to start the test when they felt ready and to complete the course (3200 m) in the shortest possible time. The total execution time was measured with a stopwatch and recorded by the responsible researcher. The  $VO_{2max}$  was estimated using the following equation:  $VO_{2max} \text{ (ml/kg}^{-1}\text{/min}^{-1}) = 118.4 - 4.774 \times (T)$ , where T = time in minutes with a decimal fraction to complete the 3200-m run [22].

### **Subjective stress assessment and recovery/rest**

In a quiet, climatized environment without external interference, the athletes were invited and oriented to complete three questionnaires to better characterize their previous conditions of stress and rest. These were applied twice for each athlete, always before each exhaustion test. The Profile of Mood States (POMS) [30] was used to evaluate the psychometric state from Total Humoral Disturbance (THD), the EPWORTH Sleepiness Scale-Brazilian (ESS-BR) [31] was used to evaluate the situations related to the occurrence of daytime sleepiness, and the Stress and Recovery Questionnaire for Athletes (RESTQ-Sport) [32] was used to evaluate the state of stress and recovery from everyday situations that are potentially stressful and restful.

### **Run to exhaustion test**

On the day of experiments, after two hours of the standardized breakfast with the experimental or placebo beverage, the athletes performed a running test at 80% of their  $VO_{2max}$  until exhaustion. The two tests were separated by one week (washout period), and on the following days, the athletes maintained the training routine. The tests were always performed at the same time in the morning and on the same treadmill (Movement LX 160 GII, São Paulo, Brazil) in a climatized environment with temperature and humidity controlled by a thermohygrometer (Incoterm, Porto Alegre, Brazil). To control the intensity of the exhaustion test, we used a cardiofrequencímetro (Polar FT1, Kempele, Finland) to monitor heart rate. The test was interrupted when the runner exhibited an inability to follow the treadmill's speed in addition to verbal confirmation by the athlete and a reference between 19 and 20 on the Borg Rating of Perceived Exertion Scale [33]. The total run time was recorded.

### **Biochemical analysis**

The oxidant activity of malondialdehyde (MDA) was quantified in plasma by the reaction of thiobarbituric acid with the products of decomposition of hydroperoxides, according to the method described by Ohkawa, Ohishi and Yagi [34]. Total antioxidant capacity (TAC) was quantified in the plasma by measuring the

scavenging activity of the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl using the method described by Brand-Williams et al. [25]. Plasma concentrations of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and alpha-1-acid glycoprotein (A1GPA) were quantified by immunoturbidimetry using specific commercial kits (Labtest) and an automatic analyzer (LabMax 240 Premium; Labtest) according to the manufacturer's instructions. Creatine kinase (CK) was measured using the catalytic activity method, and concentrations of lactate dehydrogenase (LDH) were measured using the pyruvate-lactate method, both with specific commercial kits (Labtest, Minas Gerais, Brazil) in an automated analyzer (Labmax 240 Premium; Labtest, Minas Gerais, Brazil) according to the manufacturer's instructions.

## Statistical analyses

Data are presented as the means  $\pm$  standard deviations. Normality and homogeneity were evaluated using the Shapiro–Wilk and Levene tests, respectively. The results of the biomarkers were analyzed using a 2-way ANOVA for multiple comparisons, with Tukey's post hoc test, when appropriate. To compare the time-to-exhaustion running results, nutritional profile, mood, sleep quality, recovery/stress, perception of effort and biomarkers at baseline, we used a t-test for paired samples. In addition, an individual analysis (simple subject analysis) was performed on the time variable of exhaustion to identify how many athletes improved their performance. Values of  $p < 0.05$  were considered statistically significant. GraphPad Prism 7.0 (San Diego, Calif., USA) was used.

## Ethical statement

The study was fully conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, its protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Center for Health Sciences, Federal University of Paraiba (protocol n. 2.196.523). The participants signed an informed consent form according to Resolution 466/12 of the National Health Council (Brazil) and informed consent was obtained from all volunteers before the inclusion in the study.

## Results

### Characterization of purple grape juice and placebo drink

Table 1 presents the characteristics of the experimental beverages in terms of antioxidant activity and total phenolic composition. Purple grape juice had a higher presence of total phenolics and antioxidant activity than the placebo, which presented only small concentrations of antioxidants.

## [TABLE 1]

**Characterization of participants**

The participants presented cardiorespiratory fitness classified as excellent for active healthy men [35] but not for top-level athletes (table 2). All of them practiced running at least four times a week, in addition to complementary activities such as resistance exercise (46.1%), soccer (15.4%) and cycling (23.1%), simultaneously with the running training. They participated in approximately 30 local or national running competitions per year.

## [TABLE 2]

Table 3 shows that athletes had the same physiological conditions on the two occasions in which they were tested after consuming the experimental juice or the placebo drink for biomarkers of oxidative stress, muscle soreness and inflammation. Psychometric tests indicated the same state of mood, stress, and recovery for training loads, as well as having slept for the same amount of time in the week prior to the two experimental procedures.

The nutritional conditions prior to the experiments were similar between the groups, except for the intake of the selenium mineral; a higher consumption was demonstrated prior to the intake of the placebo. Considering the reference values proposed by the International Society of Sports Nutrition – ISSN [36], the nutritional assessment revealed that runners consumed a low-calorie, normoglycemic, normolipidic and normoproteic diet at both timepoints. At both experiments, the participants presented low intakes of vitamins A and E, copper, zinc and manganese. Other micronutrients had adequate consumption levels. During the intervention period, the runners maintained their eating habits.

## [TABLE 3]

**Time-to-exhaustion running**

The results of the run to exhaustion test are shown in Fig 3. In the running test until exhaustion (80%  $\text{VO}_{2\text{peak}}$ ) after placebo drink intake, athletes achieved a mean run time of  $59.2 \pm 27.8$  minutes (Fig 2, panel A) and a mean distance traveled of  $12.6 \pm 6.3$  km. In the procedure after purple grape juice ingestion, they presented a significantly higher performance that was 9.2 minutes longer ( $p = 0.008$ ) in the mean running time-to-exhaustion, which represented an improvement of 18.7%, with a 1.9 km ( $p = 0.009$ ) longer distance traveled when compared to that travelled by the placebo group. In Fig 3 (panel B), a simple subject analysis is presented

for the performance test of each athlete. It was observed that of the 14 runners evaluated, 12 of them presented better physical performance after consuming grape juice, and only two presented lower physical performance in the grape juice procedure.

### [Fig 3]

## **Oxidative Stress**

The oxidative stress parameters analyzed are presented in Fig 4. Analysis of the time-group interaction indicated that greater antioxidant activity occurred with the time factor at the postexercise timepoint (43.6% increase;  $p=0.0003$ ) when compared to the 2h postsupplementation timepoint (increase of 1.7%;  $p>0.05$ ) in relation to the baseline values in the procedure with the purple grape juice (Fig 4, panel A). Despite this pronounced increase, no difference was found in the interaction group. On the other hand, there were no changes in the lipid peroxidation response in any of the procedures (Fig 4, panel B).

### [Fig 4]

## **Inflammation and Muscle Damage**

In Fig 5, the data demonstrate the acute inflammatory response assessed by the A1GPA and PCR markers (panels A and B), and the muscle damage activity assessed by the CK and LDH enzymes were not significantly modified ( $p=0.99$ ) at any timepoint (panels C and D).

### [Fig 5]

## **Discussion**

The present study demonstrated that a single dose of purple grape juice (10 mL/ kg of body weight) promoted increased plasma antioxidant activity and significant improvements in specific physical performance in recreational runners.

Previous studies in animal models have demonstrated the ergogenic effects of purple grapes and their derivatives including antioxidant protection [6, 9, 37] and improvements in physical performance [8, 9, 38]. However, studies with humans on this topic are still scarce. In addition, the studies that demonstrated an

ergogenic effect of supplementation administered grape polyphenol concentrate [16, 39], and only one study considered food intake [13]. Lafay et al. [39] supplemented athletes with grape extract (400 mg/ day) for 30 days and observed improvement in physical performance and antioxidant capacity and reduction in muscle soreness. Improvement in physical performance was also observed by Deley et al. [16] when they tested the intake of a single dose of 500 g of polyphenol in active adults and observed greater time to exhaustion, time to reach maximal perceived exertion and half-recovery time for  $VO_{2max}$ .

Until the present study, the ergogenic capacity of grape juice in humans had been demonstrated only by Toscano et al. [13], who chronically supplemented athletes and observed increased physical performance in running associated with improved antioxidant activity. This is very relevant data for athletes, but the present study shed light on even more important data by demonstrating that only a single dose of whole grape juice is able to promote better results than those observed with multiple dose supplementation. The magnitude of the increase in the physical performance of the runners found by Toscano et al. [13] after 28 days of supplementation was approximately 15%, whereas that observed in this study was 18.7% for a single dose. These data demonstrate an important practical implication, that athletes do not necessarily need to drink multiple doses of grape juice, but only a single dose at pre-exercise time.

This single-dose response is supported by other studies with grape derivatives and other foods. Acute supplementation with grape and apple polyphenols [16] improved in time to exhaustion by 9.7% and pomegranate extract [40] also improved time to exhaustion in 12%, both in physically active individuals. *Ecklonia cava* polyphenol [15] besides improved exhaustion time in college students by a greater magnitude (30%) than that observed in the present study, increased the  $VO_{2max}$  in 6.5%. Studies suggest that these variations in supplementation responses may be explained by the time the supplement was consumed. The time between ingestion and exercise in these studies varied from 30 minutes to 1 hour pre-exercise. According to Stalmach et al. [41] and Keane et al. [42], antioxidant responses from phenolic metabolites peak in plasma concentrations between 1 and 2 hours after food intake.

Nutritional strategies to promote the athlete's maximum performance and a better recovery and to increase their usual energy intake, especially in the form of carbohydrates, are important during training sessions or precompetition [36, 43]. From a new perspective, the present study indicates that endurance athletes can also benefit from the intake of preworkout grape juice. It is plausible to suppose that the increase in physical performance could have been promoted by the rich carbohydrate composition of the juice (32 g of carbohydrates/ 200 mL of grape juice), which would corroborate the previous data that demonstrated the benefit of a high-carbohydrate diet precompetition [44, 45]. However, the placebo drink offered in the control session, along with the pretest meal, had a very similar amount of carbohydrates, providing approximately 1.9 g / kg of carbohydrate (considering a 70 kg athlete) two hours before the test according to the American College of Sports Medicine [43] guidelines for sports nutrition. Thus, we can state from our findings that the addition of precompetition whole purple grape juice promoted additional nutritional benefit to recreational-level runners.

The mechanism of muscle fatigue for long-term exercise is not fully understood in the literature, but it is known that metabolic acidosis and glycogen depletion are well established causes [46]. Once the placebo drink in this study was isoglycidic, we cannot attribute the ergogenic effect of grape juice to carbohydrates. On the other hand, Jing-jing et al. [47] indicates that oxidative stress hinders the mechanism of muscle contraction, so we can assume that antioxidant compounds may retard this mechanism of fatigue. However, further studies are

needed to confirm this mechanism or even to determine other components involved in delaying polyphenol fatigue. Additionally, the polyphenols present in grapes also have anti-inflammatory [13, 48] and vasodilator properties [49, 50], which may contribute to increase the supply of muscle oxygen.

Athletes presented inadequate dietary intake of antioxidant nutrients, such as vitamins A and E, in addition to the minerals zinc, copper and manganese [36]. This condition leads the athlete to a state of oxidative imbalance and may decrease the protective activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, glutathione and catalase), which is caused mainly by the low intake of minerals (copper, zinc and manganese), which are considered enzyme binding cofactors responsible for the first-line defense in the antioxidant system, superoxide dismutase [51-53]. In this sense, due to the rich composition of vitamins [54], minerals [55] and polyphenolic compounds [56, 57], the grape juice may have momentarily adjusted the athletes' nutritional deficiency. To better assess this possibility, it is necessary to study athletes with an adequate nutritional intake.

In the present study, we can declare that a limited antioxidant effect was observed since we evaluated only TAC to assess antioxidant activity, and this parameter increased after the exhaustion test, without changing the plasma concentrations of lipid peroxidation by MDA. However, this effect may be explained by the bioavailability of polyphenols, confirmed by plasma concentrations after two to three hours of juice ingestion [58, 59]. In fact, we observed the highest antioxidant concentration after approximately three hours since the exhaustion test occurred after two hours of juice intake and had an average duration of 68 minutes. The lack of reduction in lipid peroxidation observed in this study was also demonstrated in other studies that performed a similar exercise protocol at a similar intensity and also used antioxidant supplementation [60, 61].

A practical implication of this study is the recommendation of whole grape juice as a potentially ergogenic food for recreational athletes. Grape juice may be considered an interesting option for athletes to consume daily or even ingest in the hours before a competition. Grape juice may be considered a complete preworkout food for athletes because it presents high caloric value from its composition of carbohydrates and still contains several antioxidants capable of delaying fatigue and optimizing recovery.

The study presented important limitations regarding the plasma antioxidant response since it evaluated only TAC but not antioxidant enzymes. In addition, although MDA is a well-accepted biomarker in the literature, it evaluates nonspecific cell oxidation. Given these limitations, we suggest that studies with a similar protocol be developed to evaluate antioxidant enzymes and specific oxidative stress markers. Thus, it will be possible to demonstrate the protective effect of purple grape juice in an even more important way.

We also suggest developing new studies that include high performance athletes since this study allows us to consider the results only for recreational athletes. Since in this study, two hours after the ingestion of grape juice, there was no increase in plasma concentrations of antioxidants, we suggest a new study that evaluates the physical performance after three hours of juice intake, following our same protocol.

## Acknowledgments

The authors thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel level (CAPES) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the support and encouragement of this research. The authors also thank the Instituto Brasileiro do Vinho (IBRAVIN) together with the Government

of the State of Rio Grande do Sul, with funds from the Agriculture Secretariat of Rio Grande do Sul, for supporting the execution of this work.

### Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

### References

1. TOSCANO, L.T et al (2017) Phenolics from purple grape juice increase serum antioxidant status and improve lipid profile and blood pressure in healthy adults under intense physical training. *J Funct Foods* 33: 419–424. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.03.063>
2. GONÇALVES, M.C et al (2011) Organic grape juice intake improves functional capillary density and post occlusive reactive hyperemia in triathletes. *Clinics* 66: 1537-1541. <http://dx.doi.org/10.1590/S1807-59322011000900005>
3. KRIKORIAN, R et al (2012) Concord grape juice supplementation improves memory function in older adults with mild cognitive impairment. *Br J Nutr* 103: 730-734. <https://doi.org/10.1017/S0007114509992364>
4. BLUMBERG, J.B.; VITA, J. A.; CHEN, C.Y (2015) Concord Grape Juice Polyphenols and Cardiovascular Risk Factors: Dose-Response Relationships. *Nutrients* 7: 10032-10052. <https://doi.org/10.3390/nu7125519>
5. GEORGIEV, V.; ANANGA, A.; TSOLOVA, V (2014) Recent Advances and Uses of Grape Flavonoids as Nutraceuticals. *Nutrients* 6: 391-415. <https://doi.org/10.3390/nu6010391>
6. DALLA CORTE, C.L et al (2013) Antioxidant effect of organic purple grape juice on exhaustive exercise. *Appl Physiol Nutr Metab* 38: 558-565. <https://doi.org/10.1139/apnm-2012-0230>
7. FLAMINI R et al (2013) Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. *Int J Mol Sci* 14: 19651-19669. <https://doi.org/10.3390/ijms141019651>
8. MINEGISHI, Y et al (2011) Red grape leaf extract improves endurance capacity by facilitating fatty acid utilization in skeletal muscle in mice. *Eur J Appl Physiol* 111: 1983-1989. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-1826-2>
9. DAL-ROS, S et al (2011) Chronic intake of red wine polyphenols by young rats prevents aging-induced endothelial dysfunction and decline in physical performance: role of NADPH oxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 14: 743-749. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.12.060>
10. XIANCHU, Liu et al (2018) Grape seed proanthocyanidin extract supplementation affects exhaustive exercise-induced fatigue in mice. *Food Nutr Res* 62: 1-7. <https://doi.org/10.29219/fnr.v62.1421>
11. BELVIRANLI, M et al (2012) Effects of grape seed extract supplementation on exercise-induced oxidative stress in rats. *Br J Nutr* 108: 249-256. <https://doi.org/10.1017/S0007114511005496>
12. VESKOUKIS, A.S et al (2012) The antioxidant effects of a polyphenol-rich grape pomace extract in vitro do not correspond in vivo using exercise as an oxidant stimulus. *Oxid Med Cell Longev* 2012: 185-867. <https://doi.org/10.1155/2012/185867>

13. TOSCANO, L.T et al (2015) Potential ergogenic activity of grape juice in runners. *Appl Physiol Nutr Metab* 40: 1-8. <https://doi.org/10.1139/apnm-2015-0152>
14. MORILLAS-RUIZ, J.M (2006) Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clin Nutr* 25: 444-453. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2005.11.007>
15. OH, J.K et al (2010) Effect of supplementation with Ecklonia cava polyphenol on endurance performance of college students. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 20: 72–79. <https://doi.org/10.1123/ijsnem.20.1.72>
16. DELEY, G et al (2017) An Acute Dose of Specific Grape and Apple Polyphenols Improves Endurance Performance: A Randomized, Crossover, Double-Blind versus Placebo Controlled Study. *Nutrients* 9: 917. <https://doi.org/10.3390/nu9080917>
17. CASES, J et al (2017) Supplementation with a polyphenol-rich extract, PerfLoad®, improves physical performance during high-intensity exercise: a randomized, double blind, crossover trial. *Nutrients* 9: 421. <https://doi.org/10.3390/nu9040421>
18. MUGGERIDGE, D.J et al (2014) A Single Dose of Beetroot Juice Enhances Cycling Performance in Simulated Altitude. *Med and Sci in Sports and Exerc* 46: 143-150. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182a1dc51>
19. LUNN W.R et al (2012) Chocolate milk and endurance exercise recovery: protein balance, glycogen, and performance. *Med and Sci in Sports and Exerc* 44: 682-691. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182364162>
20. DAVISON, G et al (2012) The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. *Eur J of Nutri* 51: 69-79. <https://doi.org/10.1007/s00394-011-0193-4>
21. SANGUIGNI, V et al (2017) Natural antioxidant ice cream acutely reduces oxidative stress and improves vascular function and physical performance in healthy individuals. *Nutri* 33: 225-233. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.07.008>
22. WELTMAN, A. et al (1987) Prediction of lactate Threshold and fixed blood lactate concentrations from 3200 m running performance in male runners. *Int J of Sports Med* 8: 401-406. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1025694>
23. LEVERS, K. et al (2016). Effects of powdered Montmorency tart cherry supplementation on acute endurance exercise performance in aerobically trained individuals. *J Int Soc Sports Nutr* 22: 1-23. <http://dx.doi.org/10.1186/s12970-016-0133-z>
24. JACKSON, A.S., POLLOCK, M.L (1978) Generalized equations for predicting body density of men. *Br J of Nutri* 40: 497-504. <https://doi.org/10.1079/BJN19780152>
25. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci and Technol Lebensm-Wiss and Technol* 28: 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
26. MILLER, N.J et al (1993) A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 84: 407-412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>
27. RUFINO, M. S. M et al (2010) Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem* 121: 996–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>
28. ROSSI, J.A.; SINGLETON, V.L (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144-158.

29. STALMACH, A et al (2012) Gastrointestinal stability and bioavailability of (poly)phenolic compounds following ingestion of Concord grape juice by humans. *Mol Nutr and Food Res* 56: 497–509. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100566>
30. VIANA, M.F.; ALMEIDA, P.L.; SANTOS, R.C (2001) Adaptação portuguesa da versão reduzida do Perfil de Estados de Humor - POMS. *Análise Psicológica* 1: 77-92.
31. BERTOLAZI, A.N et al (2009) Validação da escala de sonolência de Epworth em português para uso no Brasil. *J Bras Pneumol* 35: 877-883. <http://dx.doi.org/10.1590/1806-3713/e20180314>
32. COSTA, L. O. P.; SAMULSKI, D. M (2005) Processo de validação do questionário de estresse e recuperação para atletas (RESTQ-Sport) na língua portuguesa. *R. Bras. Ci. e Mov* 13: 79-86. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132009000900009>
33. BORG, G.A (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 14: 377–381. <https://doi.org/10.1249/00005768-198205000-00012>
34. OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
35. AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE [ACSM] (2000). Guidelines For Graded Exercise Testing and Exercise Prescription. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Pa., USA.: 300–312.
36. KERKSICK, C. M et al (2018) ISSN exercise and sport nutrition review: research and recommendations. *J Int Soc Sports Nutr* 7: 1-43. <https://doi.org/10.1186/s12970-018-0242-y>
37. VESKOUKIS, A.S et al (2012) The antioxidant effects of a polyphenol-rich grape pomace extract in vitro do not correspond in vivo using exercise as an oxidant stimulus. *Oxid Med Cell Longev* 2012: 1-14. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/185867>
38. XIANCHU, LIU et al (2018) Grape seed proanthocyanidin extract supplementation affects exhaustive exercise-induced fatigue in mice. *Food Nutr Res* 1: 1–7. <https://doi.org/10.29219/fnr.v62.1421>
39. LAFAY, S et al (2009) Grape extract improves antioxidant status and physical performance in elite male athletes. *J Sports Sci Med* 8: 468-480.
40. TREXLER, E. T et al (2014) Effects of pomegranate extract on blood flow and running time to exhaustion. *Appl Physiol Nutr Metab* 39: 1038-1042. <https://doi.org/10.1139/apnm-2014-0137>
41. STALMACH, A.; EDWARDS, C.A.; WIGHTMAN, J.D.; CROZIER, A (2011) Identification of (poly) phenolic compounds in Concord grape juice and their metabolites in human plasma and urine after juice consumption. *J Agric Food Chem* 59: 9512–9522. <https://doi.org/10.1021/jf2015039>
42. KEANE, K.M.; BAILEY, S.J.; VANHATALO, A.; JONES, A.M.; HOWATSON, G (2018) Effects of montmorency tart cherry (L-Prunus Cerasus) consumption on nitric oxide biomarkers and exercise performance. *Scand J Med Sci Sports* 28:1746–1756. <https://doi.org/10.1111/sms.13088>
43. AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE [ACSM]; ACADEMY OF NUTRITION AND DIETETICS; DIETITIANS OF CANADA (2016) Nutrition and Athletic Performance. *Med Sci Sports Exerc*
44. BAKER, L.B et al (2015) Acute Effects of Carbohydrate Supplementation on Intermittent Sports Performance. *Nutrients* 7: 5733-5763. <https://doi.org/10.3390/nu7075249>
45. COUTO, P.C et al (2015) High Carbohydrate Diet Induces Faster Final Sprint and Overall 10,000-m Times of Young Runners. *Pediatr Exerc Sci* 27: 355-363. <https://doi.org/10.1123/pes.2014-0211>
46. RADAK, X et al (2017) Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biol* 12: 285–290. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.02.015>

47. JING-JING, W.; ZHEN, Q.; PENG-YUAN, W.; YANG, S.; XIA, L (2017) Muscle fatigue: general understanding and treatment *Exp Mol Med* 49: e384- 394 <https://doi.org/10.1038/emm.2017.194>
48. MYBURGH, K.H.; KRUGER, M.J; SMITH, C (2012) Accelerated skeletal muscle recovery after in vivo polyphenol administration. *J Nutr Biochem* 23:1072–1079. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.05.014>
49. CHAVES, A.A et al. (2009) Vasoprotective endothelial effects of a standardized grape product in humans. *Vascul Pharmacol* 50: 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2008.08.004>
50. BARONA, J.; ARISTIZABAL, J.C.; BLESSO, C.N.; VOLEK, J.S.; FERNANDEZ, M.L (2012) Grape polyphenols reduce blood pressure and increase flowmediated vasodilation in men with metabolic syndrome. *J Nutr* 142: 1626–1632. <https://doi.org/10.3945/jn.112.162743>
51. VINCENT, H.K.; INNES, K.E.; VINCENT, K.R (2007) Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab* 9: 813-839. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2007.00692.x>
52. BOCCA, B et al (2017) Trace elements, oxidative status and antioxidant capacity as biomarkers in very low birth weight infants. *Environ Res* 156: 705-713. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.04.027>
53. FETHEROLF, M et al (2017) Oxygen-dependent activation of Cu,Zn-superoxide dismutase-1. *Metallomics* 9: 1047-1059. <https://doi.org/10.1039/c6mt00298frsc.li/metallomics>
54. ALI, K et al (2010) Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. *Phytochem Rev* 9: 357–378. <https://doi.org/10.1007/s11101-009-9158-0>
55. TOALDO, I.M et al (2016) Bioactive potential of *Vitis labrusca* L. grape juices from the Southern Region of Brazil: phenolic and elemental composition and effect on lipid peroxidation in healthy subjects. *Food Chem* 173: 527-35. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.171>
56. GIOVINAZZO, G.; GRIECO, F (2015) Functional Properties of Grape and Wine Polyphenols. *Plant Foods Hum Nutr* 70: 454-62. <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0518-1>
57. RASINES-PEREA, Z., & TEISSEDRE, P. L (2017). Grape polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. *Molecules* 22: 68. <https://doi.org/10.3390/molecules22010068>
58. GARCIA-ALONSO, J et al (2006) Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. *Nutr Res* 26: 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2006.06.004>
59. XIA, E et al (2010) Biological activities of polyphenols from grapes. *Int J Mol Sci* 11: 622-646. <https://doi.org/10.3390/ijms11020622>
60. MORILLAS-RUIZ et al (2005) The effects of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress: results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists. *Eur J Appl Physiol* 95: 543-549. <https://doi.org/10.1007/s00421-005-0017-4>
61. DECROIX, L et al (2017) Acute cocoa Flavanols intake has minimal effects on exercise-induced oxidative stress and nitric oxide production in healthy cyclists: a randomized controlled trial *J Int Soc Sports Nutr* 14: 28. <https://doi.org/10.1186/s12970-017-0186-7>

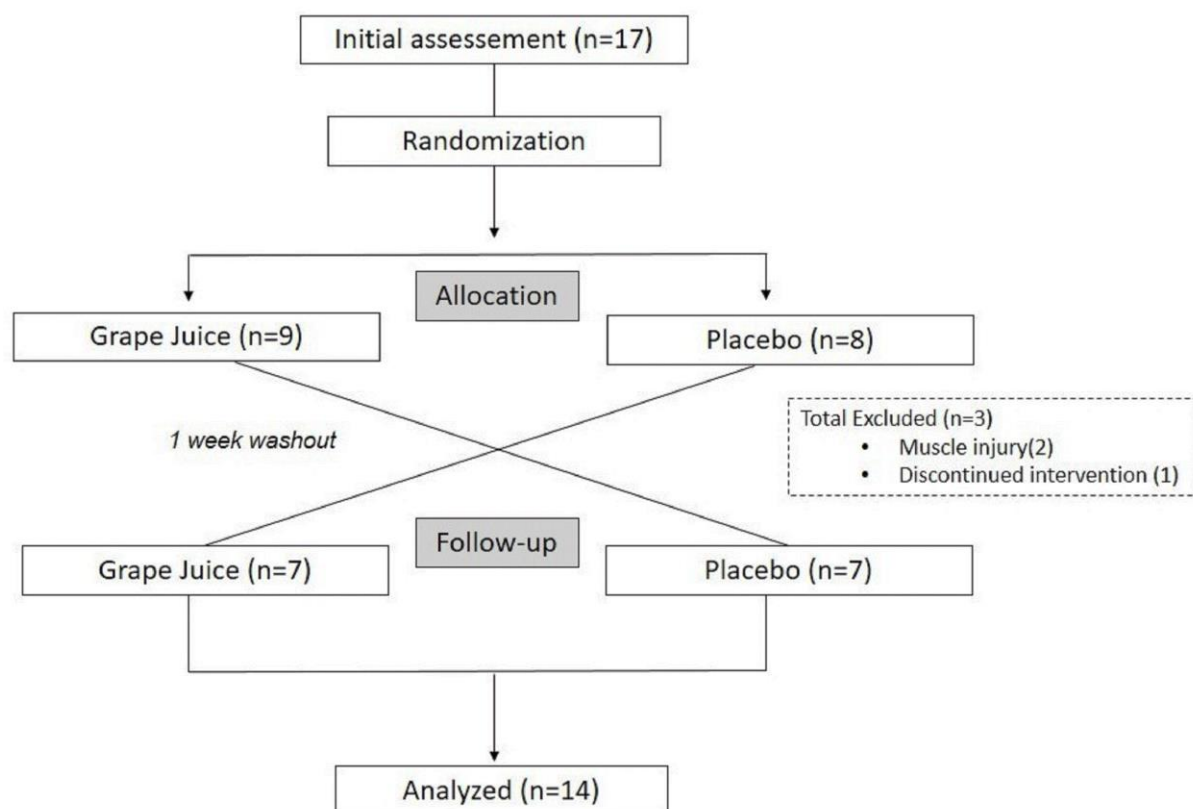


**Fig 1** CONSORT Flow Diagram

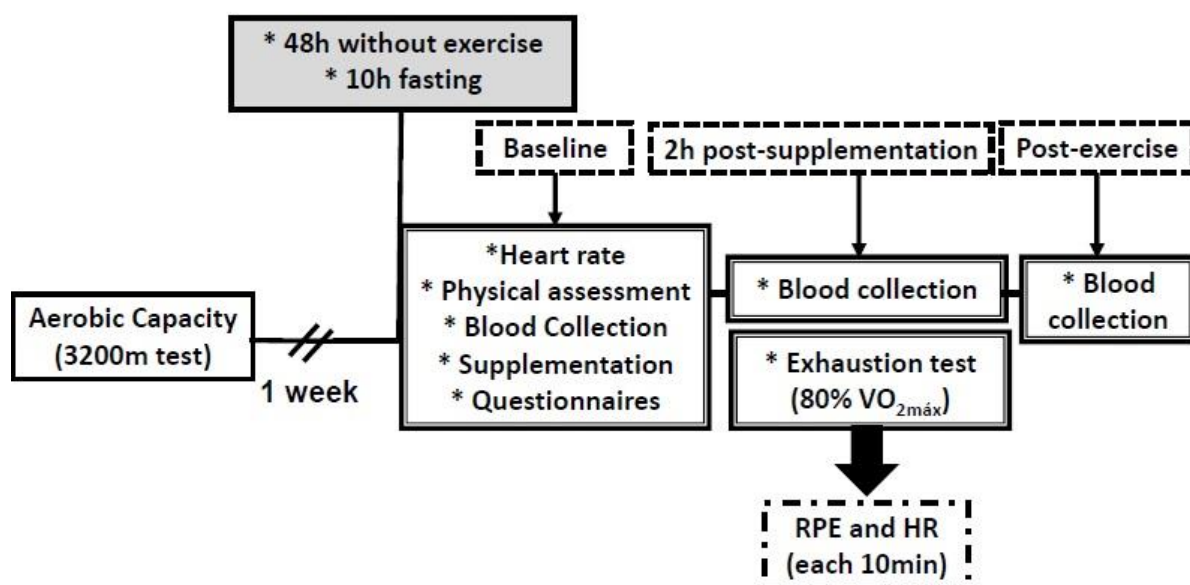


**Fig 2** Design of the experimental study

**Table 1** Antioxidant activity of whole purple grape juice and the placebo drink

|                                       | Grape juice | Placebo |
|---------------------------------------|-------------|---------|
| DPPH ( $\mu\text{Mol Trolox/ mL}$ )   | 13.0        | 8.1     |
| ABTS (ATT $\mu\text{Mol Trolox/mL}$ ) | 9.5         | ND      |
| Total phenolics (mg/L)                | 3106.6      | 939.5   |
| Flavanois (mg/L)                      | 13.0        | -       |
| Flavonois (mg/L)                      | 5.3         | -       |
| Phenolic Acids (mg/L)                 | 83.8        | 1.6     |
| Stilbenes (mg/L)                      | 2.1         | -       |

*DPPH* 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl, *ABTS* 2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid, *ND* not detected, *HPLC* high-performance liquid chromatography, *EMBRAPA* empresa brasileira de pesquisa agropecuária

**Table 2** Baseline characteristics of runners (n=14) (mean $\pm$ SD)

|                                       |                  |
|---------------------------------------|------------------|
| Age (years)                           | 39 $\pm$ 9.2     |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )              | 23.3 $\pm$ 2.3   |
| Body fat (%)                          | 10.5 $\pm$ 4.3   |
| RHR (bpm)                             | 53.7 $\pm$ 6.4   |
| VO <sub>2peak</sub> (mL/kg/min)       | 55.9 $\pm$ 6.5   |
| Training (years)                      | 10.7 $\pm$ 9.3   |
| Training frequency (days/week)        | 5.0 $\pm$ 1.1    |
| Training time (minutes/session)       | 65.0 $\pm$ 20.4  |
| Training volume (km/week)             | 62.3 $\pm$ 18.9  |
| Complementary activity (minutes/week) | 148.9 $\pm$ 75.2 |
| Work (hours/days)                     | 6.7 $\pm$ 2.5    |

*BMI* body mass index, *RHR* resting heart rate, *VO<sub>2peak</sub>* peak oxygen consumption

665

**Table 3** Psychometric, sleep and recovery characteristics; biochemical markers; and nutritional status of the runners on the day of the experimental procedures (n=14)

|                              | Grape Juice | Placebo     | <i>p</i> |
|------------------------------|-------------|-------------|----------|
| MDA (μmol/L)                 | 4.3±1.0     | 4.1±1.0     | 0.99     |
| TAC (%)                      | 27.8±7.6    | 27.8±7.7    | 0.99     |
| A1GPA (mg/dl)                | 70.4±17.7   | 69.2±14.2   | 0.70     |
| hs-CRP (mg/dl)               | 1.5±1.2     | 1.5±1.6     | 0.95     |
| CK (U/L)                     | 193.2±80.9  | 206.7±118.0 | 0.99     |
| LDH (U/L)                    | 318.1±65.0  | 309.5±52.3  | 0.99     |
| Energy (kcal/kg/day)         | 34.5±12.6   | 38.9±14.6   | 0.46     |
| Carbohydrate (g/kg/day)      | 5.3±1.8     | 5.5±1.8     | 0.75     |
| Protein (g/kg/day)           | 1.2±0.4     | 1.3±0.5     | 0.44     |
| Fat (g/kg/day)               | 1.0±0.5     | 1.3±0.9     | 0.31     |
| Vitamin A (RE/day)           | 509.5±430.9 | 614.5±372.7 | 0.54     |
| Vitamin C (mg/day)           | 112.7±130.3 | 129.9±131.5 | 0.76     |
| Vitamin D (mg/day)           | 28.6±65.8   | 25.9±80.9   | 0.93     |
| Vitamin E (mg/day)           | 7.6±5.3     | 12.7±9.6    | 0.14     |
| Copper (μcg/day)             | 0.9±0.3     | 1.2±1.2     | 0.39     |
| Selenium (μcg/day)           | 45.9±27.4   | 68.1±21.6*  | 0.04     |
| Zinc (mg/day)                | 6.2±2.5     | 8.1±4.3     | 0.21     |
| Manganese (mg/day)           | 185.5±76.8  | 183.5±94.2  | 0.95     |
| Sleep (hours/day)            | 7.6±1.7     | 7.4±1.5     | 0.52     |
| ESS-BR (score)               | 7.1±2.2     | 5.8±3.1     | 0.13     |
| POMS (score)                 | 89.9±16.7   | 91.5±12.4   | 0.56     |
| Stress RESTQ-Sport (score)   | 0.7±0.6     | 0.7±0.8     | 0.99     |
| Recovery RESTQ-Sport (score) | 3.8±0.8     | 3.9±1.0     | 0.99     |

\* indicates significant difference ( $p < 0.05$ ) between the groups analyzed by paired t-test.

MDA malondialdehyde, TAC total antioxidant capacity, A1GPA alpha-1-acid glycoprotein, hs-CRP high-sensitivity c-reactive protein, CK creatine kinase, LDH lactate dehydrogenase, ESS-BR epworth sleepiness scale-brazilian, POMS profile of mood states; RESTQ sport recovery-stress questionnaire for athletes

666

667

668

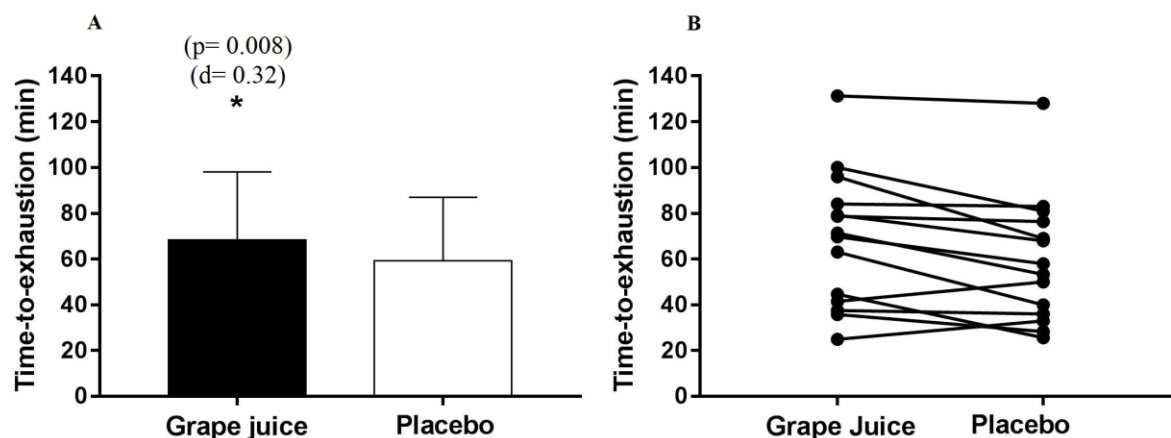


**Fig 3** Effects of whole purple grape juice on performance of the running test. Panel A, physical performance (mean  $\pm$  SD) and panel B, individual results of each athlete's absolute running time.  $*$  indicates a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the groups analyzed by a paired t-test ( $n=14$ ).  $d$  = small effect size

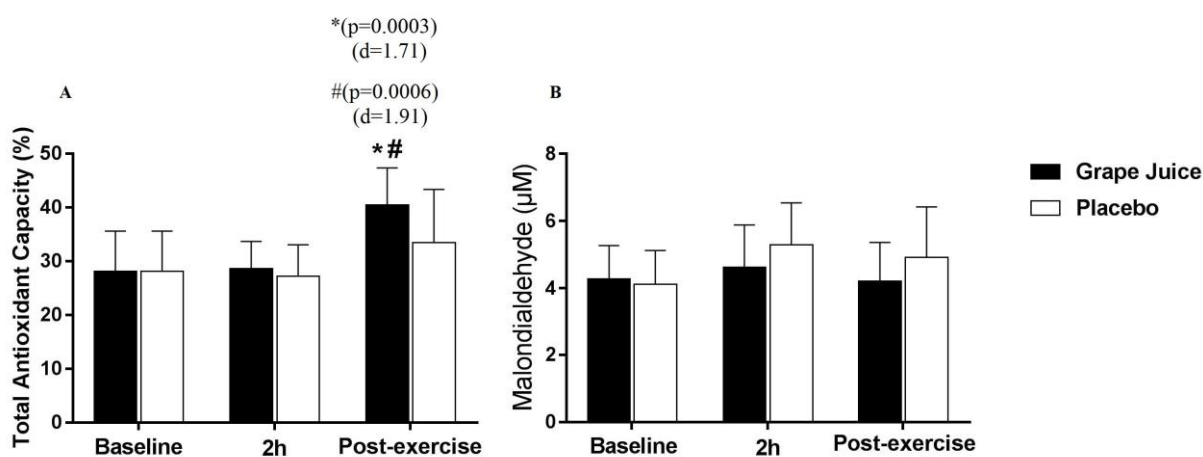


**Fig 4** Effect of whole purple grape juice on oxidative stress biomarkers (mean $\pm$ SD). **a** antioxidant activity and **b** lipid peroxidation in moments baseline, 2h postsupplementation and post-exercise. Two-way ANOVA for repeated measurements ( $n=14$ ).  $*$  indicates significant ( $p < 0.05$ ) intragroup difference between the baseline and postexercise timepoints.  $\#$  indicates significant ( $p < 0.05$ ) intragroup difference between the 2h and postexercise timepoints.  $d$  = large effect size

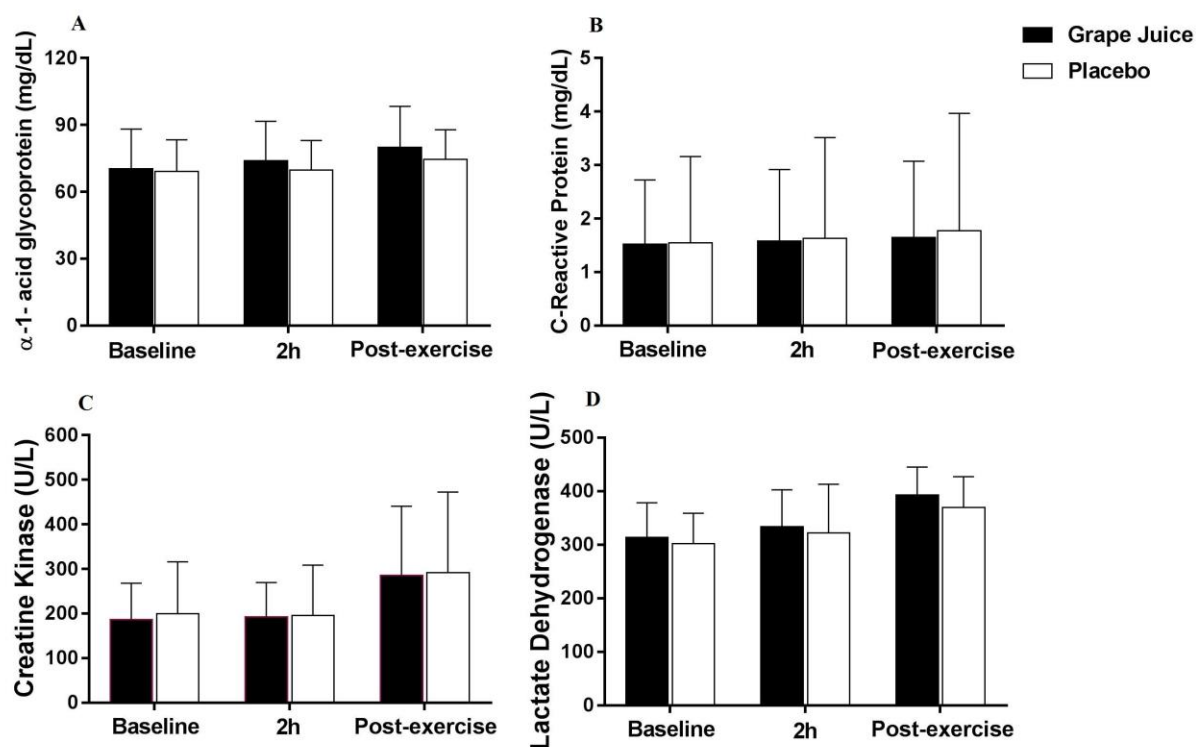


**Fig 5** Effect of whole purple grape juice on inflammatory and muscle wasting biomarkers (mean $\pm$ SD). **a** A1GPA and **b** hs-CRP; **c** CK and **d** LDH in moments baseline, 2h postsupplementation and post-exercise. Two-way ANOVA for repeated measurements (n=14)

**APÊNDICE B - ARTIGO 2****INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS SOD3 ARG213GLI E PPAR $\alpha$  7G/C SOBRE OS EFEITOS ERGOGÊNICOS DO SUCO DE UVA TINTO****Periódico:** SPORTS MEDICINE**ISSN:** 1179-2035**Qualis:** A1 na área de Nutrição (Classificação de periódicos no quadriênio 2013-2016)**Fator de Impacto:** 7.583

# INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS SOD3 ARG213GLI E PPAR $\alpha$ 7G/C SOBRE OS EFEITOS ERGOGÊNICOS DO SUCO DE UVA TINTO

Lydiane de Lima Tavares Toscano<sup>1,2</sup>, Alexandre Sérgio Silva<sup>1,2</sup>, Klécia de Farias Sena<sup>2</sup>, Bruno Rafael Virgínio de Sousa<sup>1,2</sup>, Eder Jackson Bezerra de Almeida Filho<sup>2</sup>, Valério Marcelo Vasconcelos do Nascimento<sup>3</sup>, Matheus da Silveira Costa<sup>1,2</sup>, Lucindo José Quintans-Júnior<sup>4</sup>, Luana Heimfarth<sup>4</sup>, Aline Telles Biasoto Marques<sup>5</sup>, Darcilene Fiuza da Silva<sup>6</sup>, Darlene Camati Persuhn<sup>1,7</sup>, Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Paraíba, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e a Saúde, Departamento de Educação Física, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Paraíba, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Biotecnologia, Núcleo de Pesquisa Experimental e Clínica em Cardiologia, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Paraíba, Brasil.

<sup>4</sup>Laboratório de Neurociências e Ensaios Farmacológicos, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracajú, Sergipe, Brasil.

<sup>5</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brasil.

<sup>6</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

<sup>7</sup>Departamento de Biologia Molecular, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, Paraíba, Brasil.

\* Autor correspondente:

Alexandre Sérgio Silva,

Laboratório de Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e a Saúde, Departamento de Educação Física, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Centro de Ciências da Saúde, Campus I, Cidade Universitária, CEP 58059-900, João Pessoa - PB, Brasil. Telephone: +55 83 9 8875-4675/ 3216-7030

Email: alexandresergiosilva@yahoo.com.br

## RESUMO

**Introdução** estudos com intervenção nutricional em atletas têm demonstrado que existem diferentes graus de responsividade a protocolos de suplementação. Polimorfismos genéticos são possíveis esclarecedores dessa variabilidade, sendo os genes SOD3 Arg213Gli e PPAR $\alpha$  7G/C influenciadores no balanço redox e no desempenho de corredores. **Objetivo** investigar a participação dos polimorfismos SOD3 Arg213Gli e PPAR $\alpha$  7G/C nos efeitos da suplementação com suco de uva tinto sobre o desempenho físico e estresse oxidativo em corredores recreacionais. **Métodos** Trinta corredores ( $34,4 \pm 1,5$  anos;  $VO_{2\text{máx}}$ :  $50,8 \pm 1,1$  ml/kg/min) realizaram dois testes de exaustão na esteira à 80% $VO_{2\text{máx}}$ , sendo um antes da suplementação com suco de uva (10ml/kg/dia por 28 dias) e outro após. Biomarcadores antioxidantes e de estresse oxidativo foram avaliados em plasma, pré e pós-intervenção. O DNA foi extraído de mucosa bucal e genotipado por meio de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Os atletas foram classificados para SOD3 como alelo G (n=12) ou homozigoto CC (n=17), e para PPAR $\alpha$  como alelo C (n=12) ou homozigoto GG (n=16). **Resultados** Independente da genotipagem, o suco melhorou o tempo de exaustão significativamente em  $9,2 \pm 2,6$  minutos. Porém, portadores do alelo GG do PPAR $\alpha$  tiveram piora do tempo ( $-0,3 \pm 1,8$  minutos), significativamente diferente dos portadores do alelo C que aumentaram  $8,7 \pm 6,0$  minutos. Análise dos atletas categorizados pelo gene da SOD3 revelou apenas uma tendência de melhor desempenho para o alelo CC ( $p=0,06$ ). Os biomarcadores avaliados não se mostraram influenciados por genótipo específico. **Conclusão** atletas com genótipo GG não obtiveram os efeitos ergogênicos do suco de uva no teste de corrida até exaustão.

**Palavras-chave:** polimorfismo genético, suplementação antioxidante, estresse oxidativo, desempenho físico, alimentos ergogênicos

## INTRODUÇÃO

As uvas roxas apresentam propriedades que lhes conferem um diferenciado status antioxidante e anti-inflamatório, quando comparadas à outros alimentos, devido a sua rica composição em compostos polifenólicos como antocianidinas, catequinas e resveratrol [1, 2]. No âmbito esportivo, tem sido reportada melhora do desempenho físico e efeito antifadiga [3, 4], além da redução do estresse oxidativo [5-7] e da inflamação [4] em estudo com modelo animal suplementado com derivados das uvas.

Em estudo com humanos, observou-se melhoria do desempenho físico após suplementação com extrato de uvas em handebolistas [8] e com polifenóis de uva e maçã em adultos fisicamente ativos [9]. Além disso, a modulação do estresse oxidativo foi observada por Lafay et al. [8] e Taghizadeh [10] pós-suplementação de múltiplas doses com extrato de uvas, assim como para uma única dose de suco de uva concentrado [11].

Nosso laboratório observou efeito ergogênico do suco de uva tinto em corredores (10 ml/kg/dia por 28 dias consecutivos) com o aumento de 15% no desempenho físico da corrida, acompanhado do aumento da atividade antioxidante e redução da resposta inflamatória [12]. Entretanto, as respostas individuais foram muito distintas entre os atletas, tendo uma minoria não respondido bem à intervenção, e as variações da maioria que se mostrou responsiva foram muito distintas, com aumentos entre 6% e 30% (4 a 11 minutos) no tempo de corrida até a exaustão.

Esta variação na magnitude das respostas individuais tem sido demonstrada em outros estudos com diferentes suplementos, nos quais os polimorfismos genéticos são apontados como possíveis fatores esclarecedores deste fenômeno. Em resposta a suplementação com cafeína, ciclistas, avaliados para o polimorfismo (C/A) no gene CYP1A2, com genótipo AA apresentaram maior magnitude na melhoria do desempenho físico (4,9%) comparados aos portadores do alelo C (1,8%) [13], assim como os praticantes de exercícios resistidos com genótipo AA obtiveram vantagens sobre número de repetições quando comparados aos portadores do alelo C [14]. Além do desempenho físico, a resposta nutricional dependente da característica genética também exerce influência sobre a capacidade aeróbia, atividade antioxidante [15] e marcadores de desgaste muscular [16, 17]. Entretanto, a influência genotípica sobre os efeitos da ingestão dos derivados das uvas, ainda não foi estudada em atletas. Até onde sabemos, apenas Cho et al. [18] demonstraram a influência dos variantes genéticos sobre as respostas antioxidantes em fumantes suplementados com suco de uva.

Sendo a rica composição em polifenóis uma possível explicação para o efeito ergogênico das uvas, os variantes genéticos da superóxido dismutase (SOD) principais responsáveis pela regulação da atividade antioxidante enzimática [19], podem modular a resposta à suplementação com suco de uva. Assim como o Receptor- $\alpha$  Ativado por Proliferador de Peroxissoma (PPAR $\alpha$ ), que é regulador tanto da atividade redox sistêmica [19, 20] como da capacidade oxidativa dos músculos esqueléticos [21, 22]. Além de uma possível modulação nos efeitos antioxidantes à suplementação, os aspectos fisiológicos dos genes da SOD e PPAR $\alpha$  podem modular o desempenho físico de corredores de endurance.

Portanto, o objetivo desse estudo foi investigar a participação dos polimorfismos SOD3 Arg213Gln e PPAR $\alpha$  7G/C nos efeitos da suplementação com suco de uva tinto sobre o desempenho físico e estresse oxidativo em corredores recreacionais.

## MÉTODOS

### Caracterização do suco de uva e protocolo de suplementação

A bebida experimental utilizada para a suplementação foi o suco de uva roxa da Cooperativa Vinícola Nova Aliança (Flores da Cunha, Rio Grande do Sul, Brasil) produzida a partir de uvas das variedades Isabel, Bordô e Concord (*V. labrusca*). Este produto foi caracterizado como uma bebida natural, integral (100% fruta), não alcoólica, sem adição de açúcar, água, aromatizantes ou conservantes, de acordo com as informações do fabricante.

Segundo o fabricante, 200 ml de suco de uva contêm 140 kcal e 33 g de carboidratos e não contêm quantidades significativas de proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras trans, fibra alimentar ou sódio. Amostras do suco de uva foram enviadas ao Laboratório de Enologia Embrapa Semiárido (Petrolina, Pernambuco, Brasil) e avaliadas em triplicata. A composição antioxidante foi determinada pela atividade sequestradora de radicais livres usando DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) [23] e ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid) [24,25] enquanto, o conteúdo fenólico total foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Folin-Ciocalteu [26]. A quantificação dos compostos fenólicos (flavanois, flavonóis, ácidos fenólicos e estilbenos) foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) usando um sistema Waters 2695 Alliance

(Milford, MA, EUA) equipado com um detector de matriz de diodos (DAD) e um detector de fluorescência (FLD) de acordo com o método validado pela EMBRAPA [27].

No protocolo de suplementação, os atletas consumiram 10 mL/kg/dia de suco de uva tinto [28,12] divididos em doses pré e imediatamente pós-treino durante 28 dias consecutivos. Nos dias sem treinamento, os atletas consumiram a suplementação em dois momentos livres ao longo do dia. O grupo controle consumiu uma bebida à base de carboidratos (sabor artificial de uva) com a mesma quantidade de calorias, carboidratos e volume do suco de uva.

## Participantes

O tamanho da amostra foi calculado como proposto por Eng [29], considerando um aumento na atividade antioxidante de  $22,5 \pm 5,5$  para  $31,2 \pm 10,8$  percentual de inibição de radicais em resposta à suplementação com suco de uva tinto em atletas [12] (TOSCANO et al., 2015). O mínimo de 14 participantes foi calculado para cada grupo, considerando erro  $\alpha$  de 0,05 e poder estatístico de 0,95. Ponderando que este tamanho amostral poderia não ser suficiente para formação de subgrupos de acordo com a característica genotípica, o estudo foi realizado com 30 atletas. Um grupo controle com 10 voluntários foi formado para previamente confirmar o efeito ergogênico do suco de uva sobre o desempenho físico.

Para participar do estudo, os atletas deveriam estar treinando há pelo menos um ano com frequência de cinco sessões de treino por semana (pelo menos três sessões de corrida) por pelo menos dois meses sem interrupção, e participando de competições regularmente. Os participantes não poderiam apresentar doenças crônico-degenerativas, não podiam fumar e nem fazer uso de nenhum medicamento cronicamente. Além disso, não poderiam ter o hábito de consumir vinho tinto, suco de uva tinto, suplemento alimentar, vitaminas, ou produtos com compostos polifenólicos, regularmente. Atletas que sofreram lesões musculares esqueléticas, que alteraram seus hábitos usuais de alimentação ou treinamento físico, que iniciaram terapia medicamentosa e que não consumiram a quantidade adequada dos produtos fornecidos durante o período do estudo, foram excluídos. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba e Comitê Nacional de Ética em Pesquisa, sob protocolo n. 2.196.523. Os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (Brasil).

## **Desenho Experimental**

Na semana anterior ao início da suplementação, os participantes foram submetidos a um teste ergoespirométrico de corrida em esteira para avaliação da capacidade aeróbia ( $\text{VO}_2$  pico). Na semana seguinte, eles participaram dos procedimentos experimentais. Após 48 horas sem treinamento e jejum noturno (10 horas), os atletas foram submetidos à coleta sanguínea (para análise dos biomarcadores de estresse oxidativo), avaliação da qualidade de sono, recuperação, perturbação de humor, e avaliação nutricional, para em seguida, realizar o teste de exaustão na esteira. Posteriormente, os atletas iniciaram o protocolo de suplementação com suco de uva tinto (10ml/ kg/ dia) por 28 dias consecutivos. Por fim, 48 horas após o 28º dia de suplementação, os voluntários foram submetidos às mesmas avaliações iniciais e, adicionalmente, realizaram a coleta da mucosa bucal, para posterior genotipagem. O desenho experimental está apresentado na Figura 1.

### **[Figura 1]**

## **Procedimentos pré-experimentais**

Os atletas foram instruídos a abster-se de exercício físico por 48 horas antes das avaliações e realizar jejum noturno (10 horas). Além disso, os atletas foram orientados a não ingerir bebidas alcoólicas e suplementos alimentares nas 24h anteriores ao protocolo, a não consumir cafeína na noite anterior ao experimento e não ingerir água na manhã das avaliações, para garantir a exclusão de quaisquer efeitos associados. Por volta das seis horas da manhã chegaram ao laboratório e foram acomodados em sala climatizada, onde permaneceram sentados em repouso por 10 minutos para verificação da frequência cardíaca e, em seguida, foi realizada a coleta de sangue. Posteriormente, os atletas consumiram um lanche padronizado composto por um sanduíche (50g de pão integral + 34g de queijo branco processado = 152 kcal; 21,8g de carboidratos; 7,4g de proteína; 3,6g de gordura; 4,0g de fibra) e suco de fruta (36,6 kcal, 9,4g de carboidratos; 0,5 g de proteína; 0,15g de gordura).

### **Limiar anaeróbico e capacidade aeróbia (teste ergoespirométrico)**

Na semana anterior ao início da suplementação, os participantes foram submetidos ao teste ergoespirométrico de corrida em esteira para determinação do limiar anaeróbio, ponto de compensação respiratório e  $\text{VO}_2$  pico. Utilizou-se o teste com aplicação de carga crescente em protocolo de rampa individualizado, utilizando a esteira ergométrica (GE T2100, Boston, EUA). O teste foi conduzido por um médico cardiologista, em ambiente com condições de temperatura e umidade adequadas, de acordo com as recomendações das Diretrizes do Colégio Americano de Medicina Esportiva [30]. Para a mensuração dos gases expirados foi utilizado um medidor de gases Vmax Enconre 295 da Carefusion (San Diego, EUA), associado ao software Cardiosoft 6.51. Considerou-se como critérios para interrupção do teste, a percepção subjetiva de esforço, incapacidade de manter-se correndo na esteira, ausência de aumento da frequência cardíaca com elevação da intensidade, náusea, palidez excessivas e extrassístoles sequenciais.

### **Avaliação subjetiva de estresse e recuperação/ descanso**

Em ambiente calmo e climatizado, sem interferências externas, os atletas foram orientados a responder a três questionários para melhor caracterizar suas condições anteriores de estresse, recuperação e descanso. Estes foram aplicados duas vezes para cada atleta, sempre antes de cada teste de exaustão. O Questionário de Estresse e Recuperação para Atletas (RESTQ-Sport) [31] foi utilizado para avaliar o estado de estresse e recuperação de situações cotidianas potencialmente estressantes e repousantes. O perfil do estado de humor (POMS) [32] foi utilizado para avaliar o estado psicométrico a partir do escore da perturbação total de humor (THD) e o EPWORTH, escala de sonolência - brasileira (ESD-BR) [33] para avaliar a ocorrência de situações relacionadas à sonolência diurna.

### **Composição corporal e Ingestão alimentar**

Para avaliação da composição corporal mediu-se a estatura em um estadiômetro portátil (Sanny, Standard, São Paulo, Brasil) estando o atleta em posição anatômica (plano de Frankfurt) e depois avaliados por meio de uma Bioimpedância (InBody 570 Biospace®, San

Francisco, California, USA) com análise por multifrequência em sistema de eletrodos tetrapolar com oito pontos táteis.

A ingestão alimentar foi avaliada por meio de recordatório alimentar de 24 horas, aplicados duas vezes para cada participante, no momento pré-intervenção e pós-intervenção para caracterizar o consumo nas 24 horas anteriores aos testes experimentais (Avanutri®, Rio de Janeiro, Brasil). Além disso, foram questionados sobre possíveis desconfortos gastrointestinais, como dor abdominal, distensão abdominal, constipação, diarreia, azia, flatulência e náusea.

### **Teste de corrida até a exaustão**

O teste de esforço até a exaustão, com velocidade constante, realizado à 80% do  $VO_{2pico}$ , foi realizado antes do início da suplementação e ao final, 48 horas após a última dose da suplementação. O teste foi realizado em esteira (Movimento LX 160 GII, São Paulo, Brasil), sob temperatura e umidade relativa controladas (Incoterm, Porto Alegre, Brasil). Para controlar a intensidade do teste de exaustão, foi utilizado um cardiofrequencímetro (Polar FT1, Kempele, Finlândia) para monitorar a frequência cardíaca e a escala de percepção subjetiva de esforço proposta por Borg [34]. O teste era interrompido quando o corredor demonstrava incapacidade de acompanhar a velocidade da esteira, além da confirmação verbal do atleta e referindo estar entre 19 e 20 na escala de esforço. Após o término do teste, o tempo total de execução era registrado.

### **Genotipagem**

O DNA foi extraído de células da mucosa bucal obtidas por meio de bochecho com solução a 3% de sacarose e transferido para um tubo contendo uma solução conservadora [35]. Os genótipos foram determinados por meio da técnica de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) em cadeia de polimerase usando *primers* específicos.

Para o polimorfismo SOD3 Arg213Gli foi utilizado o *primer sense* (5'-CGCCAGGCGCGGGAACACTCAG -3') e *primer antisense* (5'-GGCGGACTTGCACTCGCTCTCG -3') seguindo o protocolo de Laddha [36]. Para o polimorfismo PPARα 7G/C foi utilizado o *primer sense* (5'-

ACAATCACTCCTTAAATATGGTGG-3') e *primer antisense* (5'-AAGTAGGGACAGACAGGACCAGTA -3') seguindo o protocolo de Pishva et al. [37].

Os produtos de PCR e RFLP digeridos e não digeridos foram avaliados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 15% e coloração com nitrato de prata à 0,5%.

### **Estresse oxidativo**

O estresse oxidativo foi mensurado através da peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas, para oxidação celular. Enquanto a medida da atividade antioxidante foi realizada através da capacidade antioxidante total e da quantificação da enzima superóxido dismutase.

A peroxidação lipídica foi quantificada pelo produto metabólico do malondialdeído (MDA). Para isso, adotamos a reação do ácido tiobarbitúrico no plasma, de acordo com o método descrito por Ohkawa et al [38]. Enquanto, a carbonilação de proteínas foi quantificada no plasma a partir da oxidação de proteínas e formação de cetonas ou aldeídos reativos com 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) para formar hidrazonas, de acordo com Levine et al [39]. A capacidade antioxidante total (CAOT) foi quantificada no plasma, para mensurar a atividade sequestradora de radicais livres do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), usando o método descrito por Brand-Williams et al. [23]. A atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) foi quantificada pelo método de inibição da auto-oxidação da adrenalina na presença de SOD, conforme descrito por Boveris [40].

### **Análises Estatísticas**

Os dados estão apresentados como média e erro padrão da média. Normalidade e homogeneidade foram testadas por Shapiro–Wilk e Levene, respectivamente. Inicialmente, os efeitos do suco de uva sobre o desempenho físico e balanço redox dos corredores foram testados por meio da comparação entre o delta variação absoluto (diferenças do pré-intervenção x pós-intervenção) dos grupos suco de uva e controle. Em seguida, as análises foram realizadas apenas para o grupo experimental, sendo este grupo subdividido de acordo com os genótipos. Para o polimorfismo SOD3 Ag213Gli os atletas foram divididos pela presença do alelo G ou genótipo CC, e para o polimorfismo PPARα 7G/C, pela presença do alelo C ou genótipo GG. Para comparar as diferenças entre os deltas absolutos, em todos

estes casos, utilizou-se teste t independente para os dados paramétricos ou seu correspondente não paramétrico, por meio do pacote estatístico SPSS, versão 24.0, considerando significativo  $p < 0,05$ . Finalmente, foi calculado o *effect size* por meio do teste de Cohen (d) para amostras independentes utilizando o GPower Statistics 3.1 e classificado de acordo com [41] em pequeno ( $d = 0.00 - 0.40$ ), médio ( $d = 0.50 - 0.70$ ), grande ( $d = 0.80 - 1.00$ ) ou muito grande ( $d \geq 1.30$ ).

## RESULTADOS

### Caracterização do suco de uva e bebida controle

A Tabela 1 apresenta as características a atividade antioxidante, composição fenólica total e polifenóis específicos da bebida experimental. A bebida controle foi caracterizada, segundo o fabricante, como bebida de carboidrato (50g: 191 kcal, 48 g de carboidrato) por não apresentar proteínas, gorduras e fibras em sua composição. Além de apresentar a mesma quantidade de calorias, carboidratos e volume oferecido ao grupo que consumiu suco de uva, utilizou-se a bebida de carboidrato com sabor artificial de uva, como proposto por [12] Toscano et al. (2015).

#### [Tabela 1]

### Caracterização dos participantes

As características basais dos grupos, controle, suplementado com suco de uva geral e suplementado por genótipos foram similares (Tabela 2). Os corredores apresentavam o consumo máximo de oxigênio abaixo dos corredores de elite [42], caracterizando-os à nível recreacional. Quanto às características antropométricas foram classificados como eutróficos e apresentavam um percentual de gordura característico para corredores recreacionais [43]. Os atletas apresentavam, em média, de pelo menos seis anos de experiência na corrida e treinavam pelo menos três vezes por semana, com volume de aproximadamente 32 km

semanais. Adicionalmente, realizavam atividades físicas complementares como, esportes coletivos, lutas, musculação, ciclismo e pilates. Tempo de experiência na corrida e as características do treinamento habitual dos atletas como, volume/ intensidade e frequência, além das horas diárias trabalhadas, foram similares tanto entre o grupo controle e o suplementado, como para os grupos divididos por genótipos.

A distribuição das frequências dos genótipos indicou que para o polimorfismo Arg213Gli do gene SOD3, o genótipo CC foi o mais frequente (58,6%), seguido pelo genótipo CG apresentou 41,4% de frequência, enquanto o genótipo GG não foi encontrado no grupo estudado. Para o polimorfismo PPAR $\alpha$  7G/C a frequência encontrada foi de 60,7% para o genótipo GG, 32,2% para GC e 7,1% para o genótipo CC.

### [Tabela 2]

#### **Avaliação Nutricional e Avaliação subjetiva de estresse e recuperação**

Na Tabela 3 estão demonstradas as informações do estado nutricional dos atletas nas 24 horas prévias aos testes de exaustão, no início do estudo e após 28 dias de suplementação. O grupo controle e o grupo experimental (independente do genótipo) apresentaram similaridade quanto à ingestão de proteínas, lipídios, vitaminas A e D, assim como para os minerais cobre e zinco. Entretanto, a ingestão calórica total, o consumo de carboidratos, vitaminas C e E, selênio e manganês, diferiram entre os grupos. Vinte e quatro horas antes das avaliações pré-intervenção, o grupo controle apresentou maior ingestão calórica ( $p=0,001$ ), além do maior consumo de vitamina E ( $p=0,00$ ) e selênio ( $p=0,02$ ), enquanto o grupo experimental realizou maior ingestão de vitamina C ( $p=0,02$ ). No dia anterior ao teste final, pós-intervenção, o grupo controle apresentou maior ingestão de carboidratos ( $p=0,03$ ) e manganês ( $p=0,01$ ) do que o grupo experimental.

Considerando os atletas do grupo experimental categorizado de acordo com os genótipos, observou-se que apresentaram similar ingestão de calorias, macronutrientes, vitaminas A, C e D, cobre, manganês e zinco. Entretanto, o grupo CC SOD3 apresentou maior ingestão de selênio no pré-teste final quando comparado ao grupo de genótipo GG/ GC SOD3 ( $p=0,02$ ), enquanto o grupo de genótipo CC/ GC PPAR $\alpha$  ingeriu mais selênio no dia anterior

ao teste final que o grupo GG PPAR $\alpha$  ( $p=0,01$ ). O consumo de vitamina E nas 24h prévias ao teste final foi maior no grupo CC SOD3 comparado ao grupo GG/ GC SOD3 no mesmo momento ( $p=0,01$ ).

As condições de descanso dos atletas, como a qualidade do sono avaliada pela sonolência diurna e horas dormidas, o estado de perturbação do humor, e as situações de recuperação e estresse associadas ao esporte e a vida diária foram similares entre os atletas, como demonstrado na Tabela 3.

### [Tabela 3]

#### **Desempenho Físico**

O tempo no teste até a exaustão foi significativamente maior no grupo experimental. Este grupo aumentou de  $61,7\pm 29,2$  para  $71,0\pm 35,3$  minutos, equivalente a uma melhoria de  $14,5\pm 4,5\%$ , enquanto o grupo controle apresentou apenas um discreto aumento de  $61,0\pm 9,5$  para  $63,3\pm 8,9$  minutos, que corresponde a  $7,4\pm 6,0\%$  no tempo de corrida. Esta diferença entre os grupos gerou um tamanho do efeito moderado. Estes dados estão apresentados como delta absoluto na figura 2, painel A.

Realizamos, adicionalmente, uma análise das respostas individuais (Figura 2, painel B e painel C) onde se observou que dos 30 atletas suplementados, 73,3% melhoraram o tempo de corrida, enquanto 6,7% não apresentaram mudança e 20% tiveram menor desempenho. No grupo controle, 50% dos atletas melhoraram o tempo de corrida, enquanto 40% não apresentaram mudança e 10% tiveram um menor desempenho.

### [Figura 2]

Considerando apenas o grupo experimental, os atletas foram categorizados de acordo com os genótipos e observou-se que os atletas com genótipo GG/ GC do gene SOD3 ( $n=12$ ) realizaram  $70,4\pm 9,8$  minutos no tempo até a exaustão antes da suplementação e  $77,0\pm 9,7$  minutos após 28 dias suplementando. A figura 3 apresenta essa diferença do tempo até a

exaustão como delta absoluto, o que equivale a  $14,3 \pm 8,2\%$  de melhora. Enquanto isso, os atletas com genótipo CC realizaram  $57,5 \pm 7,2$  minutos no teste inicial e  $64,9 \pm 9,0$  ao final da suplementação ( $\Delta\% = 10,1 \pm 5,9$ ). Observou-se uma tendência ( $p=0,06$ ) para melhor desempenho nos atletas que apresentavam genótipo GG/ GC comparado ao genótipo CC, acompanhado por um tamanho do efeito pequeno ( $d=0,27$ ). Estes dados estão apresentados na figura 3, painel B e C.

Para o gene  $PPAR\alpha$  observou-se que os atletas com genótipo CC/ GC ( $n=12$ ) apresentaram tempo até a exaustão significativamente maior, variando de  $76,3 \pm 10,6$  minutos para  $85,0 \pm 12,2$  minutos após a suplementação ( $\Delta\% = 12,2 \pm 7,7$ ). Enquanto o genótipo GG, mostrou uma discreta redução de  $53,8 \pm 6,1$  minutos para  $53,5 \pm 6,6$  minutos ( $\Delta\% = -1,8 \pm 3,4$ ). Além do maior desempenho significativo, observou-se tamanho do efeito moderado. Estes dados estão apresentados na figura 3, painel D e E.

### [Figura 3]

#### Balanço Redox

Os efeitos da suplementação com suco de uva sobre o balanço redox estão apresentados na tabela 4. O grupo experimental demonstrou uma tendência de aumento da capacidade antioxidante ( $p=0,06$ ) em  $18,5 \pm 11,3\%$ , com *effect size* muito grande, similarmente acompanhada pela resposta enzimática da superóxido dismutase que também apresentou a mesma tendência ( $p=0,06$ ) de aumento em  $9,6 \pm 6,6\%$ , mas com pequeno *effect size*. Já os biomarcadores de estresse oxidativo indicaram que a suplementação com suco de uva induziu uma discreta redução ( $-4,4 \pm 6,6\%$ ) da carbonilação de proteínas, sem modificações na peroxidação lipídica, considerando um tamanho do efeito moderado para ambos. Enquanto isso, o grupo controle não apresentou alteração significativa na atividade antioxidante ( $-24,1 \pm 6,5\%$ ) e nem na atividade enzimática da SOD ( $6,6 \pm 4,6\%$ ). Curiosamente, notou-se no grupo controle uma carbonilação de proteínas significativamente menor com *effect size* moderado, porém sem modificações na peroxidação lipídica. Os dados sobre o balanço redox dos grupos controle e experimental estão apresentados na tabela 4.

## [Tabela 4]

Considerando apenas o grupo suplementado com suco de uva, categorizado por genótipos, observou-se que CAOT e SOD não apresentaram alteração significativa em nenhum dos grupos. Para o grupo GG/ GC SOD3, a CAOT foi de  $24,0 \pm 2,3\%$  para  $23,8 \pm 3,1\%$  e para o grupo CC, a atividade antioxidante foi de  $24,2 \pm 2,2\%$  para  $27,7 \pm 2,2\%$ . Enquanto para a superóxido dismutase plasmáticas, no grupo GG/ GC as concentrações foram  $23,5 \pm 1,5$  U/ $\mu$ l para  $24,6 \pm 1,8$  U/ $\mu$ l, e no grupo CC foram de  $24,1 \pm 1,2$  U/ $\mu$ l para  $26,2 \pm 1,6$  U/ $\mu$ l após a suplementação.

Na análise do grupo categorizado para o gene PPAR $\alpha$  também não foram observadas modificações significativas para as concentrações plasmáticas de antioxidantes. Para a CAOT no grupo CC/GC foi de  $25,4 \pm 2,5\%$  para  $24,0 \pm 3,2\%$ , e para o genótipo GG, as concentrações foram de  $22,8 \pm 2,1\%$  para  $26,8 \pm 2,1\%$ . Enquanto a SOD plasmática, no grupo CC/ GC PPAR $\alpha$  as concentrações foram  $22,9 \pm 1,6$  U/ $\mu$ l para  $26,7 \pm 2,0$  U/ $\mu$ l, e no grupo GG foram  $23,9 \pm 1,1$  U/ $\mu$ l para  $25,2 \pm 1,6$  U/ $\mu$ l após a suplementação. Estas respostas antioxidantes para os genótipos SOD3 e PPAR $\alpha$  estão apresentadas na tabela 5 como de delta absoluto.

As respostas aos marcadores de estresse oxidativo, considerando o grupo suplementado, variaram de acordo com os genótipos. O grupo CC SOD3 ( $5,1 \pm 0,4$  vs  $4,5 \pm 0,4$  nmol/mg ptn) apresentou uma maior redução na carbonilação de proteínas comparado ao grupo GG/ GC ( $4,9 \pm 0,4$  vs  $4,6 \pm 0,5$  nmol/mg ptn) com pequeno *effect size*. Entretanto, a peroxidação lipídica teve um menor aumento ( $3,9 \pm 0,2$  para  $3,9 \pm 0,3$   $\mu$ mol/L) nos atletas com genótipo GG/ GC comparados aos do genótipo CC ( $4,2 \pm 0,2$  para  $4,4 \pm 0,2$   $\mu$ mol/L), com um pequeno *effect size*.

Para os diferentes genótipos do PPAR $\alpha$  observou-se que carbonilação de proteínas e peroxidação lipídica não apresentaram alterações significativas. Observou-se para o grupo CC/ CG que a carbonilação de proteínas foi de  $5,6 \pm 0,5$  para  $4,4 \pm 0,6$  nmol/mg ptn, e no grupo GG de  $4,6 \pm 0,3$  para  $4,6 \pm 0,3$  nmol/mg ptn. Para MDA, o grupo CC/ CG foi de  $4,1 \pm 0,2$  para  $4,0 \pm 0,3$  e o genótipo GG foi de  $4,0 \pm 0,2$  para  $4,3 \pm 0,3$   $\mu$ mol/L. Estas respostas aos marcadores de estresse oxidativo para os genótipos de SOD3 e PPAR $\alpha$  estão apresentadas na Tabela 5 em forma de delta absoluto.

## [Tabela 5]

## DISCUSSÃO

Para investigar a influência genotípica na responsividade ao suco de uva, nós primeiramente comparamos o teste de desempenho entre suplementados e não suplementados, de modo que confirmamos estudo prévio que havia demonstrado o efeito ergogênico do suco de uva [12] e produtos derivados de uvas [8, 9]. Além de ratificar este efeito ergogênico, nossos dados também confirmaram uma variabilidade individual importante na responsividade à suplementação observarmos que, mesmo havendo o aumento significativo do desempenho físico, 26,7% dos atletas não se mostraram responsivos para a suplementação com suco de uva.

No presente estudo, ao considerar apenas os atletas suplementados com suco de uva, subdivididos de acordo com os genótipos, observou-se que o gene PPAR $\alpha$  se mostrou um fator influenciador na variabilidade das respostas, pois apenas os atletas portadores do alelo C para o polimorfismo 7G/C PPAR $\alpha$  foram responsivos para aumento do tempo de exaustão após suplementação. No contexto da nutrigenética, nossos dados corroboram com outros autores que demonstraram a influência genotípica na magnitude das respostas à suplementos como, cafeína [13, 14], glutathione [15] e creatina [17] em atletas. Entretanto, até onde sabemos, esse é o primeiro estudo que demonstrou a influência da nutrigenética na responsividade à alimentos *in natura* sobre o desempenho esportivo. Apesar de Ribeiro et al. [16] e Miranda-Vilela et al. [44] terem avaliado o efeito do consumo do óleo de pequi em parâmetros envolvidos com a melhoria do desempenho esportivo de corredores, a nutrigenética foi vista pelo aspecto dos mecanismos envolvidos, mas o desempenho físico especificamente, não foi testado.

O polimorfismo do PPAR $\alpha$  (genótipo CC) tem como resultado fenotípico uma menor resposta a regulação do metabolismo lipídico, atividade mitocondrial, biogênese, defesa antioxidante e anti-inflamatória [19]. Em conjunto, estes fenótipos dificultam o desempenho na modalidade desportiva, alvo de nossa investigação. Nesse sentido, podemos supor que o suco de uva parece ter compensado estas alterações fenotípicas. Embora esta suposição apresente uma plausibilidade biológica, estes fatores metabólicos e mitocondriais não foram investigados no presente estudo, de modo estudos futuros, avaliando estes mecanismos, como fatores transcricionais, atividade mitocondrial ou ainda, o efeito do suco de uva sobre a enzima citrato sintase sejam realizados para podermos avançar nesta hipótese.

Apesar das variações no desempenho físico não terem sido significativas para o gene da SOD3, os dados demonstram uma tendência estatística, na mesma direção apontada pelo polimorfismo 7G/C PPAR $\alpha$ . Ou seja, os atletas fenotipicamente menos favorecidos (genótipos CC e CG) se mostraram mais responsivos aos efeitos ergogênicos da suplementação. Esse genótipo caracteriza-se pelo aumento nas concentrações plasmáticas de SOD3 e uma consequente diminuição nos níveis intracelulares [45]. Esse fato pode ser explicado pela influência do treinamento físico em gerar uma condição adaptativa favorável ao metabolismo oxidativo dos atletas, a partir do aumento da atividade antioxidante endógena [46]. De fato, o efeito benéfico da suplementação antioxidante sobre o balanço redox é dependente da adaptação endógena [47] como, por exemplo, a regulação das vias de sinalização para biogênese mitocondrial em resposta ao exercício [48, 49].

Uma vez confirmado o efeito ergogênico do suco de uva sobre o desempenho de corredores, e evidenciado que pelo menos o genótipo PPAR $\alpha$  é um dos fatores genéticos que influenciam a responsividade à suplementação, nosso trabalho se propôs a verificar se mecanismos fisiológicos associados à resposta antioxidante explicariam este fenômeno. Entretanto, descartou a possibilidade de que a responsividade do grupo CC/ GC PPAR $\alpha$  ou, ainda a tendência para melhor responsividade para genótipo CC SOD3, foi devido à melhor resposta para o balanço redox que seria promovida pela ingestão de suco de uva. Foram observadas algumas diferenças estatísticas entre os genótipos, mas com dados inconsistentes, uma vez que a enquanto a carbonilação de proteínas apresentou maior redução no genótipo CC SOD3, a peroxidação lipídica teve menor aumento no grupo GG/ GC SOD3. Sendo estas duas variáveis indicadores de menor estresse oxidativo, estes dois genótipos se mostraram igualmente protegidos, embora um para cada indicador. Quando os grupos foram categorizados pelo polimorfismo 7G/C PPAR $\alpha$  (estatisticamente influenciador na resposta ao desempenho), não houve diferença nem nos indicadores de atividade antioxidante e nem nos indicadores de estresse oxidativo. Portanto, a partir das variáveis analisadas podemos afirmar que o balanço redox não explica a maior responsividade de atletas com genótipos CC ou CG PPAR $\alpha$  ao suco de uva.

Como principal limitação deste estudo, podemos apontar o tamanho amostral reduzido. Na análise dos subgrupos, categorizados pelos genótipos, o tamanho amostral variou de 12 a 17 atletas. Apesar de limitado, este tamanho amostral foi similar ao de estudos prévios que avaliaram a relação nutrigenética em atletas [13-15, 17]. Entretanto, como perspectiva futura, faz-se necessário aumentar o tamanho amostral dos subgrupos para

obtermos claramente uma resposta mais robusta, especialmente em relação ao gene da SOD, que mostrou uma tendência de melhoria do desempenho para o genótipo CC.

Tomados todos os dados em conjunto, este estudo teve como principal achado a descoberta de que o polimorfismo 7G/C no gene Receptor- $\alpha$  Ativado por Proliferador de Peroxissoma (loc: cromossomo 22; exon: 14) influencia nas respostas do desempenho físico, pois o genótipo GG não responde a um protocolo de suplementação com suco de uva (10ml/kg/dia por 28 dias) com o aumento no tempo de corrida até a exaustão, em comparação aos genótipos CC/ CG. Por fim, podemos concluir que atletas com genótipos CC/ CG do polimorfismo 7G/C PPAR $\alpha$  são mais responsivos ao protocolo de suplementação com várias doses de suco de uva, indicando que a nutrigenética é uma variável que deve ser considerada nos estudos da nutrição esportiva. Portanto, como implicações práticas, podemos afirmar que a avaliação genética pode ser inserida na prática clínica como uma ferramenta adicional para a prescrição individualizada, objetivando otimizar o desempenho atlético específico.

## REFERÊNCIAS

1. GIOVINAZZO G, GRIECO F. Functional Properties of Grape and Wine Polyphenols. *Plant Foods Hum Nutr.* 2015; <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0518-1>
2. RASINES-PEREA Z, TEISSEDRE PL. Grape polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. *Mol.* 2017; <https://doi.org/10.3390/molecules22010068>
3. MINEGISHI Y et al. Red grape leaf extract improves endurance capacity by facilitating fatty acid utilization in skeletal muscle in mice. *Eur J Appl Physiol.* 2011; <https://doi.org/10.1007/s00421-011-1826-2>
4. XIANCHU L et al. Grape seed proanthocyanidin extract supplementation affects exhaustive exercise-induced fatigue in mice. *Food Nutr Res.* 2018; <https://doi.org/10.29219/fnr.v62.1421>
5. DAL-ROS S et al. Chronic intake of red wine polyphenols by young rats prevents aging-induced endothelial dysfunction and decline in physical performance: role of NADPH oxidase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011; <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.12.060>
6. BELVIRANLI M et al. Effects of grape seed extract supplementation on exercise-induced oxidative stress in rats. *Br J Nutr.* 2012; <https://doi.org/10.1017/S0007114511005496>

7. DALLA CORTE CL et al. Antioxidant effect of organic purple grape juice on exhaustive exercise. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013; <https://doi.org/10.1139/apnm-2012-0230>
8. LAFAY S et al. Grape extract improves antioxidant status and physical performance in elite male athletes. *J Sports Sci Med*. 2009; 8: 468-480.
9. DELEY G et al. An Acute Dose of Specific Grape and Apple Polyphenols Improves Endurance Performance: A Randomized, Crossover, Double-Blind versus Placebo Controlled Study. *Nutrients*. 2017; <https://doi.org/10.3390/nu9080917>
10. TAGHIZADEH et al. Grape Seed Extract Supplementation and the Effects on the Biomarkers of Oxidative Stress and Metabolic Profiles in Female Volleyball Players: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Clinical Trial. *Iran Red Crescent Med J*. 2016; <https://doi.org/10.5812/ircmj.31314>
11. SILVESTRE et al. Efeito agudo da ingestão de concentrado de uva sobre os biomarcadores do estresse oxidativo em triatletas. *Rev Bras de Cineant e Des Hum*. 2014; <http://dx.doi.org/10.5007/1980-0037.2014v1654p533>
12. TOSCANO LT et al. Potential ergogenic activity of grape juice in runners. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2015; <https://doi.org/10.1139/apnm-2015-0152>
13. WOMACK CJ et al. The influence of a CYP1A2 polymorphism on the ergogenic effects of caffeine. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2012; 15: 1-7.
14. RAHIMI, R. The effect of CYP1A2 genotype on the ergogenic properties of caffeine during resistance exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Irish Journal of Medical Science (1971)* <https://doi.org/10.1007/s11845-018-1780-7>; 2018.
15. LIFANOV AD et al. Influence of the GPX1 gene polymorphism to aerobic capacity and efficiency of glutathione supplementation in athletes. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2014a; 100: 248-55.
16. RIBEIRO IF et al. The influence of erythropoietin (EPO T → G) and  $\alpha$ -actinin-3 (ACTN3 R577X) polymorphisms on runners responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi oil (*Caryocar brasiliense* Camb.): a before-after study. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*. 2013; 6:283-304.
17. LIFANOV AD et al. Effect of creatine supplementation on physical performance are related to the AMPD1 and PPARG genes polymorphisms in football players. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2014b; 100: 767-76.
18. CHO MR et al. Purple grape juice supplementation in smokers and antioxidant status according to different types of GST polymorphisms. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2015; 56: 49-56.
19. KIM, T; YANG, Q. Peroxisome-proliferator-activated receptors regulate redox signaling in the cardiovascular system. *World J Cardiol*, 2013; 5: 164-174 <https://doi.org/10.4330/wjc.v5.i6.164>

20. YANG J, XIAO YY. Grape phytochemicals and associated health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2013; 53: 1202-1225.
21. RUSSEL AP et al. Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in skeletal muscle. *Diabetes*. 2003; 52: 2874-2881.
22. AHMETOV et al. PPAR $\alpha$  gene variation and physical performance in Russian athletes. *Eur J Appl Physiol*. 2006; 97: 103–108 <https://doi.org/10.1007/s00421-006-0154-4>
23. BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology Lebensmittel-Wissenschaft e Technologie*. 1995; 28: 25-30.
24. MILLER NJ et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci*. 1993; <https://doi.org/10.1042/cs0840407>
25. RUFINO MSM et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem*. 2010; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>
26. ROSSI JA, SINGLETON VL. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965; 16: 144-158.
27. NATIVIDADE, MMP, et al. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*. 2013; 110, 665–674.
28. O'BYRNE DJ et al. Comparison of the antioxidant effects of Concord grape juice flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2012; 76: 1367-1374.
29. ENG J. Sample size estimation: how many individuals should be studied?. *Radiology*. 2003; 227: 309-313.
30. ACSM - AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Diretrizes do ACSM para os testes de esforço e prescrição de exercícios. 9a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2014.
31. COSTA LOP, SAMULSKI DM. Processo de validação do questionário de estresse e recuperação para atletas (RESTQ-Sport) na língua portuguesa. *R. Bras. Ci. e Mov*. 2005; <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132009000900009>
32. VIANA MF, ALMEIDA PL, SANTOS RC. Adaptação portuguesa da versão reduzida do Perfil de Estados de Humor - POMS. *Análise Psicológica*. 2001; 1: 77-92.
33. BERTOLAZ AN et al. Validação da escala de sonolência de Epworth em português para uso no Brasil. *J Bras Pneumol*. 2009; <http://dx.doi.org/10.1590/1806-3713/e20180314>

34. BORG GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc.* 1982; <https://doi.org/10.1249/00005768-198205000-00012>
35. AIDAR M, LINE SRP. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J.* 2007;18(2):148-52.
36. LADDHA, N. C. Role of superoxide dismutases tumor necrosis factor- $\alpha$  and- $\beta$  vitiligo susceptibility. Tese de Doutorado, capítulo VI, 2015. Disponível em: <http://localhost:8080/xmlui/handle/1/844>
37. PISHVA, H et al. Association between the FABP2 Ala54Thr, PPAR $\alpha$  Leu162/Val, and PPAR $\alpha$  intron7 polymorphisms and blood lipids ApoB and ApoCIII in hypertriglyceridemic subjects in Tehran. *Journal of Clinical Lipidology.* 2009; 3, 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2009.04.001>
38. OHKAWA H, OHISHI N, YAGI K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analyt Biochem.* 1979; 95: 351-358.
39. LEVINE RL et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 1990; 186: 464–478.
40. BOVERIS A. Determination of the production of superoxide radicals and hydrogen peroxide in mitochondria. *Methods enzymol.* 1984; 105: 429-435.
41. COOK BG, COOK L, THERRIEN WJ. Group-Difference Effect Sizes: Gauging the Practical Importance of Findings from Group-Experimental Research. *Learning Disabilities Research and Practice.* 2018; <https://doi.org/10.1111/ldrp.12167>
42. STØA EM et al. Percent utilization of VO<sub>2</sub> max at 5-km competition velocity does not determine time performance at 5 km among elite distance runners. *J Strength Cond Res.*, 2010; 5:1340-5. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181cc5f7b
43. TANDA G, KNECHTLE B. Marathon performance in relation to body fat percentage and training indices in recreational male runners. *J Sports Med.* 2013 May 28; 4:141-9. doi:10.2147/OAJSM.S44945.
44. MIRANDA-VILELA, AL et al. Association between interleukin 6 -174 G/C promoter gene polymorphism and runners' responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) oil: a before-after study *Genetics and Molecular Biology*, 2016; 39, 4, 554-566 <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0299>
45. DONG, X et al. SOD3 and eNOS genotypes are associated with SOD activity and NO<sub>x</sub>. *Experimental and therapeutic medicine* 2014; 8: 328-334. <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2014.1720>
46. MARGARITELIS NV et al. Adaptations to endurance training depend on exercise-induced oxidative stress: exploiting redox interindividual variability *Acta Physiol* 2018; 222, e12972. <https://doi.org/10.1111/apha.12898>

47. KUO, Y.C. Et al. Green tea extract supplementation does not hamper endurance-training adaptation but improves antioxidant capacity in sedentary men, *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2015; 40: 990–996. <http://dx.doi.org/10.1139/apnm-2014-0538>.
48. GOMEZ-CABRERA, A. Redox modulation of mitochondriogenesis in exercise. Does antioxidant supplementation blunt the benefits of exercise training?, *Free Radic. Biol. Med.* 2015; 86: 37–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.006>.
49. RADAK, Z et al. Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biology*, 2017; 12: 285–290.

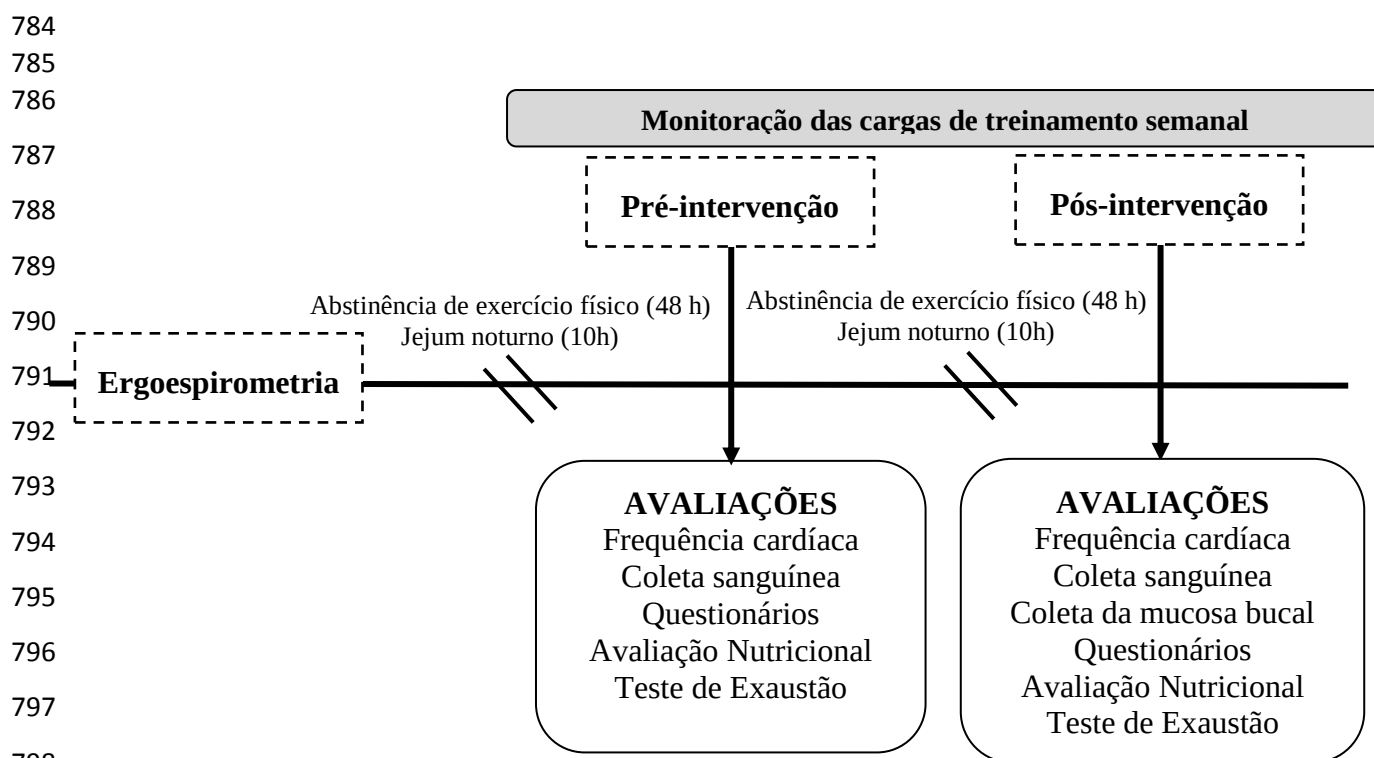


**Figura 1** - Desenho experimental do estudo.

**Tabela 1** - Características antioxidantes do suco de uva tinto integral.

|                                                   |       |
|---------------------------------------------------|-------|
| DPPH ( $\mu\text{Mol Trolox/ mL}$ )               | 13,98 |
| ABTS (ATT $\mu\text{Mol Trolox/mL}$ )             | 9,54  |
| Fenólicos Totais ( $\text{g.L}^{-1}$ )            | 2,76  |
| Antocianinas monoméricas totais ( $\text{mg/L}$ ) | ND    |
| Trans-Resveratrol ( $\text{mg/L}$ )               | 5,21  |
| Cis-Resveratrol ( $\text{mg/L}$ )                 | 4,50  |
| Catequina ( $\text{mg/L}$ )                       | 19,28 |

DPPH – 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl; ABTS – 2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid; ND - não detectado. Dados obtidos a partir da média da análise em triplicata.

**Tabela 2** – Características basais dos atletas dos grupos controle, experimental e experimental genotipado.

|                                            | Controle<br>(n=10) | Suco de<br>Uva<br>(n=30) | SOD 3<br>GG + GC<br>(n=12) | SOD 3<br>CC<br>(n=17) | PPAR $\alpha$<br>CC + CG<br>(n=12) | PPAR $\alpha$<br>GG<br>(n=16) |
|--------------------------------------------|--------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| Idade (anos)                               | 35,5 $\pm$ 2,6     | 34,4 $\pm$ 1,5           | 31,1 $\pm$ 2,4             | 36,6 $\pm$ 1,9        | 36,8 $\pm$ 2,6                     | 33,3 $\pm$ 1,9                |
| VO <sub>2pico</sub> ( $\text{mL/kg/min}$ ) | 50,0 $\pm$ 2,2     | 50,8 $\pm$ 1,1           | 53,5 $\pm$ 1,3             | 49,6 $\pm$ 1,6        | 50,5 $\pm$ 1,6                     | 51,4 $\pm$ 1,6                |
| FCR (bpm)                                  | 54,7 $\pm$ 2,1     | 55,0 $\pm$ 1,6           | 53,8 $\pm$ 2,4             | 55,2 $\pm$ 2,3        | 55,0 $\pm$ 2,8                     | 54,2 $\pm$ 2,2                |
| Gordura corporal (%)                       | 18,0 $\pm$ 0,7     | 15,5 $\pm$ 0,8           | 13,3 $\pm$ 1,2             | 16,8 $\pm$ 1,0        | 14,3 $\pm$ 1,7                     | 16,2 $\pm$ 0,9                |
| Treinamento (anos)                         | 6,6 $\pm$ 1,2      | 7,1 $\pm$ 1,3            | 6,2 $\pm$ 1,9              | 7,8 $\pm$ 2,1         | 8,9 $\pm$ 3,1                      | 6,4 $\pm$ 1,4                 |
| Frequência de treino<br>(dia/semana)       | 3,7 $\pm$ 0,3      | 4,2 $\pm$ 0,2            | 4,0 $\pm$ 0,3              | 4,5 $\pm$ 0,3         | 4,4 $\pm$ 0,4                      | 4,2 $\pm$ 0,4                 |
| Volume de treino<br>(km/semana)            | 32,5 $\pm$ 4,9     | 38,1 $\pm$ 3,1           | 40,0 $\pm$ 6,1             | 41,0 $\pm$ 4,6        | 45,4 $\pm$ 5,1                     | 32,0 $\pm$ 4,1                |
| Trabalho (horas/dia)                       | 9,3 $\pm$ 0,6      | 8,6 $\pm$ 0,4            | 8,3 $\pm$ 0,8              | 9,0 $\pm$ 0,5         | 8,0 $\pm$ 0,5                      | 8,1 $\pm$ 1,0                 |

**Legenda:** VO<sub>2pico</sub> - consumo de oxigênio pico, FCR - frequência cardíaca de repouso.

Os dados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão. Nenhuma diferença estatística ( $> 0,05$ ) no teste t para amostras independentes.

**Tabela 3** – Consumo alimentar, características psicométricas, qualidade do sono e recuperação dos atletas dos grupos controle, experimental e experimental genotipado.

|                                            | <b>Controle<br/>(n=10)</b> |                    | <b>Suco de Uva<br/>(n=30)</b> |                    | <b>SOD 3 GG + GC<br/>(n=12)</b> |                    | <b>SOD 3 CC<br/>(n=17)</b> |                    | <b>PPAR<math>\alpha</math> CC + CG<br/>(n=12)</b> |                    | <b>PPAR<math>\alpha</math> GG<br/>(n=16)</b> |                    |
|--------------------------------------------|----------------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------|---------------------------------|--------------------|----------------------------|--------------------|---------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------|--------------------|
|                                            | Pré-teste<br>inicial       | Pré-teste<br>final | Pré-teste<br>inicial          | Pré-teste<br>final | Pré-teste<br>inicial            | Pré-teste<br>final | Pré-teste<br>inicial       | Pré-teste<br>final | Pré-teste<br>inicial                              | Pré-teste<br>final | Pré-teste<br>inicial                         | Pré-teste<br>final |
| <b>Consumo alimentar</b>                   |                            |                    |                               |                    |                                 |                    |                            |                    |                                                   |                    |                                              |                    |
| Energia (kcal/kg/d)                        | 36,3 $\pm$ 3,5*            | 39,9 $\pm$ 2,5     | 31,1 $\pm$ 1,0                | 31,1 $\pm$ 1,6     | 32,6 $\pm$ 1,7                  | 30,1 $\pm$ 2,0     | 30,8 $\pm$ 1,2             | 31,4 $\pm$ 2,0     | 30,4 $\pm$ 0,7                                    | 27,8 $\pm$ 1,6     | 32,6 $\pm$ 1,6                               | 30,6 $\pm$ 1,9     |
| Carboidrato (g/kg/d)                       | 5,0 $\pm$ 0,6              | 5,5 $\pm$ 0,2*     | 4,4 $\pm$ 0,3                 | 4,0 $\pm$ 0,3      | 4,9 $\pm$ 0,5                   | 4,4 $\pm$ 0,5      | 4,2 $\pm$ 0,3              | 4,2 $\pm$ 0,4      | 4,3 $\pm$ 0,3                                     | 4,2 $\pm$ 0,4      | 4,5 $\pm$ 0,4                                | 3,5 $\pm$ 0,3      |
| Proteína (g/kg/d)                          | 1,7 $\pm$ 0,2              | 1,7 $\pm$ 0,1      | 1,5 $\pm$ 0,1                 | 1,5 $\pm$ 0,1      | 1,6 $\pm$ 0,1                   | 1,7 $\pm$ 0,2      | 1,4 $\pm$ 0,1              | 1,4 $\pm$ 0,1      | 1,4 $\pm$ 0,1                                     | 1,4 $\pm$ 0,2      | 1,4 $\pm$ 0,1                                | 1,5 $\pm$ 0,1      |
| Lipídios (g/kg/d)                          | 1,1 $\pm$ 0,1              | 1,0 $\pm$ 0,1      | 1,0 $\pm$ 0,0                 | 1,0 $\pm$ 0,0      | 1,0 $\pm$ 0,1                   | 1,0 $\pm$ 0,1      | 1,1 $\pm$ 0,1              | 1,1 $\pm$ 0,1      | 1,0 $\pm$ 0,1                                     | 1,0 $\pm$ 0,1      | 1,1 $\pm$ 0,1                                | 1,1 $\pm$ 0,1      |
| Vitamina A (RE/d)                          | 866 $\pm$ 152              | 726 $\pm$ 200      | 489 $\pm$ 62                  | 444 $\pm$ 59       | 452 $\pm$ 85                    | 397 $\pm$ 76       | 531 $\pm$ 90               | 502 $\pm$ 86       | 514 $\pm$ 111                                     | 426 $\pm$ 109      | 537 $\pm$ 92                                 | 426 $\pm$ 70       |
| Vitamina C (mg/d)                          | 46,6 $\pm$ 19              | 104 $\pm$ 28       | 131 $\pm$ 22*                 | 83,7 $\pm$ 13      | 160 $\pm$ 37                    | 77 $\pm$ 17        | 128 $\pm$ 27               | 78 $\pm$ 18        | 118 $\pm$ 32                                      | 97 $\pm$ 30        | 355 $\pm$ 210                                | 84 $\pm$ 20        |
| Vitamina D (mcg/d)                         | 4,4 $\pm$ 1,1              | 2,3 $\pm$ 0,5      | 4,3 $\pm$ 1,7                 | 3,1 $\pm$ 0,5      | 2,2 $\pm$ 0,5                   | 2,9 $\pm$ 0,7      | 2,9 $\pm$ 0,7              | 3,3 $\pm$ 0,7      | 2,2 $\pm$ 0,7                                     | 2,9 $\pm$ 0,8      | 5,7 $\pm$ 3,0                                | 3,4 $\pm$ 0,7      |
| Vitamina E (mg/d)                          | 16,1 $\pm$ 5,2*            | 9,4 $\pm$ 3,3      | 8,4 $\pm$ 0,1                 | 12,6 $\pm$ 2,0     | 9,5 $\pm$ 1,5                   | 8,0 $\pm$ 1,2      | 7,8 $\pm$ 1,1              | 15 $\pm$ 2,8*      | 9,1 $\pm$ 1,6                                     | 11,6 $\pm$ 3,4     | 8,2 $\pm$ 1,2                                | 12,0 $\pm$ 2,3     |
| Cobre (mg/d)                               | 0,9 $\pm$ 0,1              | 0,9 $\pm$ 0,1      | 0,9 $\pm$ 0,1                 | 1,2 $\pm$ 0,1      | 1,1 $\pm$ 0,1                   | 1,2 $\pm$ 0,2      | 0,8 $\pm$ 0,1              | 1,1 $\pm$ 0,1      | 1,0 $\pm$ 0,1                                     | 1,0 $\pm$ 0,2      | 0,9 $\pm$ 0,1                                | 1,2 $\pm$ 0,1      |
| Selênio ( $\mu$ cg/d)                      | 95,4 $\pm$ 14*             | 91,5 $\pm$ 17      | 58,4 $\pm$ 7,0                | 49,5 $\pm$ 6,7     | 58,3 $\pm$ 9,7                  | 11,4 $\pm$ 10*     | 73,9 $\pm$ 11              | 1,1 $\pm$ 0,1      | 83,6 $\pm$ 11                                     | 13 $\pm$ 12*       | 45,8 $\pm$ 5,5                               | 1,3 $\pm$ 0,1      |
| Manganês (mg/d)                            | 221 $\pm$ 27               | 242 $\pm$ 28*      | 134 $\pm$ 27                  | 120 $\pm$ 25       | 142 $\pm$ 47                    | 139 $\pm$ 40       | 144 $\pm$ 34               | 134 $\pm$ 33       | 156 $\pm$ 49                                      | 61,8 $\pm$ 25      | 107 $\pm$ 30                                 | 108 $\pm$ 29       |
| Zinco (mg/d)                               | 8,6 $\pm$ 1,5              | 11,2 $\pm$ 2,3     | 10,4 $\pm$ 0,8                | 11,7 $\pm$ 1,1     | 12,1 $\pm$ 1,0                  | 14,4 $\pm$ 1,8     | 8,7 $\pm$ 1,1              | 10,0 $\pm$ 1,3     | 10,5 $\pm$ 0,9                                    | 11,9 $\pm$ 1,9     | 10,2 $\pm$ 1,3                               | 12,6 $\pm$ 1,6     |
| <b>Sono, Humor, Recuperação e Estresse</b> |                            |                    |                               |                    |                                 |                    |                            |                    |                                                   |                    |                                              |                    |
| Sono (horas/d)                             | 7,2 $\pm$ 0,5              | 7,5 $\pm$ 0,3      | 7,9 $\pm$ 0,2                 | 7,8 $\pm$ 0,2      | 8,2 $\pm$ 0,1                   | 7,9 $\pm$ 0,1      | 8,0 $\pm$ 0,5              | 7,8 $\pm$ 0,5      | 7,6 $\pm$ 0,3                                     | 7,7 $\pm$ 0,2      | 8,8 $\pm$ 0,4                                | 8,3 $\pm$ 0,3      |
| ESD-BR (score)                             | 6,9 $\pm$ 1,2              | 5,5 $\pm$ 1,1      | 6,6 $\pm$ 0,8                 | 6,8 $\pm$ 0,8      | 7,9 $\pm$ 1,4                   | 8,4 $\pm$ 1,3      | 5,6 $\pm$ 1,0              | 5,6 $\pm$ 1,0      | 4,9 $\pm$ 1,1                                     | 5,3 $\pm$ 1,2      | 7,2 $\pm$ 1,1                                | 7,4 $\pm$ 1,0      |
| PTH (score)                                | 85,7 $\pm$ 5,3             | 81,7 $\pm$ 3,1     | 87,3 $\pm$ 1,9                | 91,0 $\pm$ 3,5     | 89,3 $\pm$ 2,9                  | 91,0 $\pm$ 6,5     | 89,7 $\pm$ 4,1             | 90,3 $\pm$ 4,4     | 88,3 $\pm$ 3,8                                    | 88,6 $\pm$ 5,4     | 87,2 $\pm$ 2,6                               | 89,8 $\pm$ 4,3     |
| Estresse Geral (score)                     | 1,3 $\pm$ 0,5              | 0,3 $\pm$ 0,1      | 0,7 $\pm$ 0,2                 | 0,7 $\pm$ 0,2      | 0,8 $\pm$ 0,3                   | 0,6 $\pm$ 0,3      | 0,6 $\pm$ 0,1              | 0,6 $\pm$ 0,2      | 0,9 $\pm$ 0,2                                     | 0,6 $\pm$ 0,4      | 0,4 $\pm$ 0,1                                | 0,4 $\pm$ 0,2      |
| Fadiga (score)                             | 1,1 $\pm$ 0,3              | 0,9 $\pm$ 0,1      | 1,8 $\pm$ 0,3                 | 1,6 $\pm$ 0,3      | 2,0 $\pm$ 0,3                   | 1,7 $\pm$ 0,3      | 1,9 $\pm$ 0,5              | 1,6 $\pm$ 0,3      | 2,4 $\pm$ 0,5                                     | 2,3 $\pm$ 0,6      | 1,7 $\pm$ 0,4                                | 1,6 $\pm$ 0,3      |
| Recuperação Física (score)                 | 4,1 $\pm$ 0,3              | 3,9 $\pm$ 0,5      | 3,5 $\pm$ 0,3                 | 4,0 $\pm$ 0,3      | 3,8 $\pm$ 0,3                   | 3,8 $\pm$ 0,4      | 3,5 $\pm$ 0,5              | 3,7 $\pm$ 0,2      | 3,7 $\pm$ 0,4                                     | 3,7 $\pm$ 0,5      | 3,7 $\pm$ 0,4                                | 4,1 $\pm$ 0,3      |
| Bem estar geral (score)                    | 4,1 $\pm$ 0,3              | 4,8 $\pm$ 0,2      | 3,6 $\pm$ 0,3                 | 3,8 $\pm$ 0,3      | 3,9 $\pm$ 0,2                   | 4,3 $\pm$ 0,4      | 3,9 $\pm$ 0,4              | 4,0 $\pm$ 0,0      | 3,7 $\pm$ 0,2                                     | 4,5 $\pm$ 0,4      | 4,4 $\pm$ 0,2                                | 4,5 $\pm$ 0,3      |

Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. \* indica diferença significativa ( $p < 0.05$ ) entre os grupos analisados por teste t para amostras independentes ou seu correspondente não paramétrico.

ESD-BR – Escala de Sonolência Diurna-Brasileira; PTH – Perturbação Total de Humor

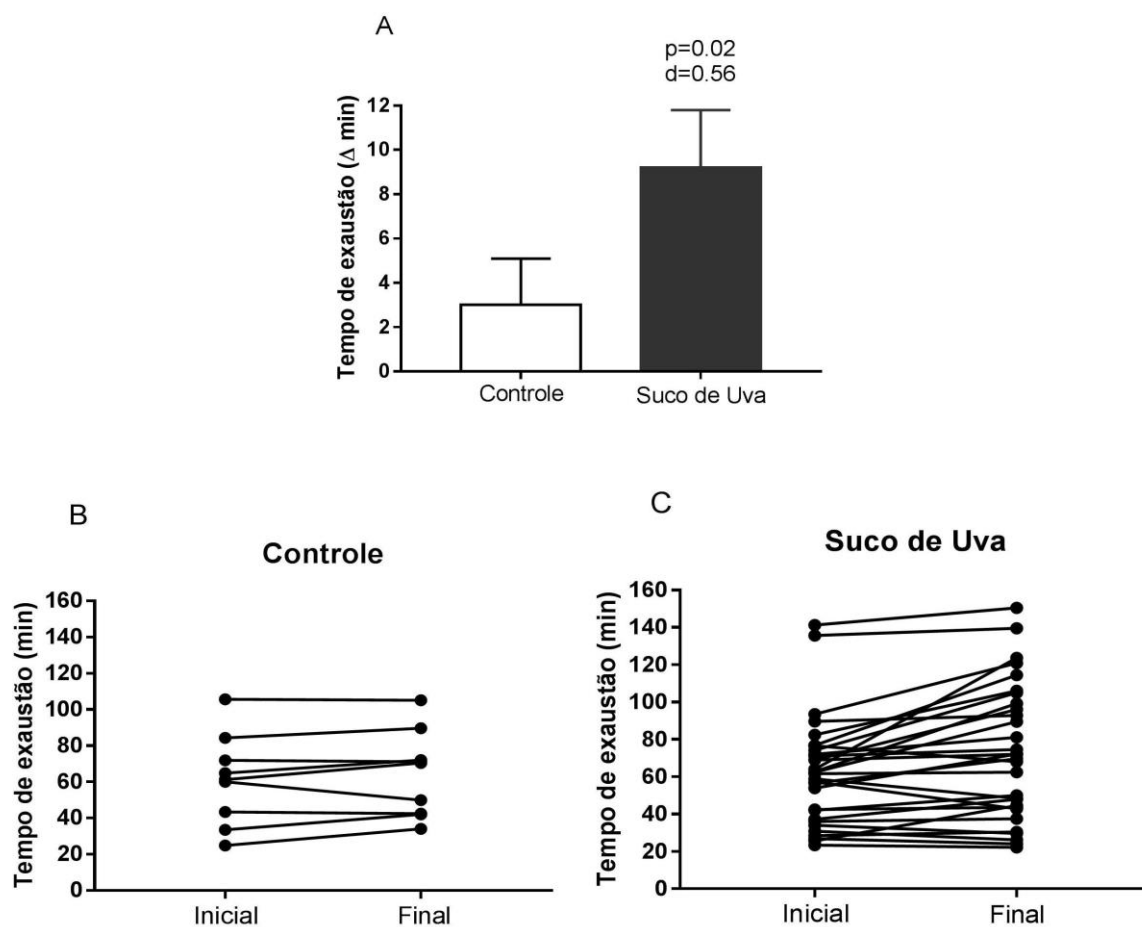


**Figura 2** – Desempenho físico de corredores recreacionais após 28 dias de ingestão de bebida controle ou suplementação com suco de uva tinto integral. Painel A, comparação entre o grupo controle x grupo suco de uva (média±erro padrão). Painel B, análise individual do tempo até a exaustão, de cada atleta do grupo controle. Painel C, análise individual do tempo até a exaustão, de cada atleta do grupo experimental.  $p<0,05$  - indica diferença significativa;  $d=0.50 - 0.70$  - indica *effect size* moderado.

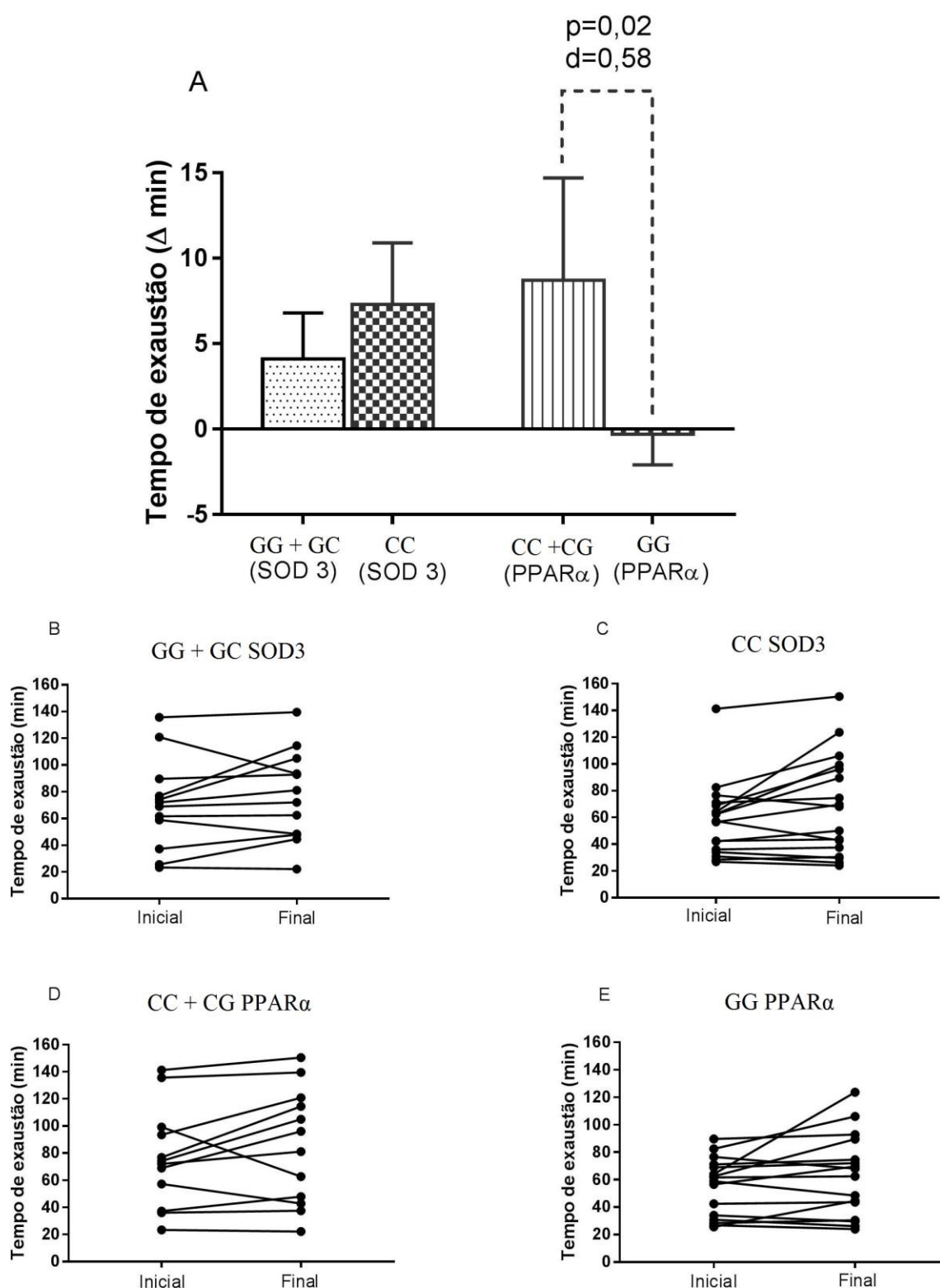


**Figura 3** – Desempenho físico de corredores recreacionais após 28 dias de suplementação com suco de uva tinto integral, de acordo com os genótipos para os genes SOD 3 e PPAR $\alpha$ . Painel A - variação absoluta do tempo até a exaustão nos grupos genotipados (média $\pm$ erro padrão). Painel B - análise individual do tempo até a exaustão, de cada atleta por genótipo.  $p<0,05$  - indica diferença significativa;  $d=0.50 - 0.70$  *effect size* moderado.

**Tabela 4** – Efeitos da suplementação com suco de uva sobre o balanço redox de corredores recreacionais.

|                                         |                    |                 | <b>P</b> | <b>d</b> |
|-----------------------------------------|--------------------|-----------------|----------|----------|
|                                         | <b>Suco de Uva</b> | <b>Controle</b> |          |          |
| CAOT (%)                                | 1,8±1,5            | -7,2±1,9        | 0,06     | 1,25     |
| SOD (U/ul)                              | 2,1±0,8            | 1,3±1,0         | 0,06     | 0,23     |
| Carbonilação de proteínas (nmol/mg ptn) | -0,4±0,3           | -1,0±0,2*       | 0,03     | 0,41     |
| MDA (μmol/L)                            | 0,1±0,1            | 0,3±0,1         | 0,26     | 0,44     |

CAOT - Capacidade AntiOxidante Total; SOD – superóxido dismutase; MDA – malondialdeído.

Os dados estão apresentados em média e erro padrão do delta absoluto.

(\*) indica diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos analisados por teste t para amostras independentes.

**Tabela 5** - Efeitos da suplementação com suco de uva sobre o balanço redox de corredores recreacionais grupados de acordo com as características genéticas para SOD3 Arg213Gli (C/G) e PPARα 7C/G.

|                                            | <b>GENE SOD 3</b>         |                      |          |          | <b>GENE PPARα</b>        |                      |          |          |
|--------------------------------------------|---------------------------|----------------------|----------|----------|--------------------------|----------------------|----------|----------|
|                                            | <b>GG + GC<br/>(n=11)</b> | <b>CC<br/>(n=17)</b> | <b>p</b> | <b>d</b> | <b>CC +CG<br/>(n=12)</b> | <b>GG<br/>(n=16)</b> | <b>p</b> | <b>d</b> |
| CAOT (%)                                   | -0,21±2,4                 | 3,5±2,0              | 0,61     | 0,44     | -1,4±2,2                 | 4,0±2,1              | 0,52     | 0,66     |
| SOD (U/ul)                                 | 1,1±1,1                   | 2,1±1,4              | 0,33     | 0,20     | 3,8±1,4                  | 1,2±0,9              | 0,44     | 0,71     |
| Carbonilação de proteínas<br>(nmol/mg ptn) | -0,3±0,3                  | -0,6±0,6*            | 0,01     | 0,16     | -1,1±0,6                 | -0,01±0,4            | 0,33     | 0,57     |
| MDA (μmol/L)                               | 0,04±0,2*                 | 0,25±0,10            | 0,009    | 0,28     | -0,10±0,2                | 0,21±0,1             | 0,30     | 0,47     |

CAOT - Capacidade AntiOxidante Total; SOD – superóxido dismutase; MDA – malondialdeído.

Os dados estão apresentados em média e desvio padrão dos valores de delta percentual.

(\*) indica diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos analisados por teste t para amostras independentes para o mesmo gene.

## APÊNDICE C – OUTROS RESULTADOS

### INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO ACTN3 R577X SOBRE OS EFEITOS ERGOGÊNICOS DO SUCO DE UVA TINTO

**Tabela 1** – Características basais dos corredores recreacionais do grupo experimental de acordo com os genótipos para ACTN3 R577X.

|                                    | RR (n = 16) | XX + RX (n = 10) |
|------------------------------------|-------------|------------------|
| Idade (anos)                       | 35, 4 ± 8,8 | 35,6 ± 8,1       |
| VO <sub>2pico</sub> (mL/kg/min)    | 50,5 ± 6,5  | 51,4 ± 6,5       |
| FCR (bpm)                          | 57,0 ± 9,1  | 51,4 ± 7,6       |
| Gordura corporal (%)               | 14,6 ± 5,1  | 15,8 ± 4,1       |
| Treinamento (anos)                 | 8,8 ± 8,5   | 5,1 ± 3,3        |
| Frequência de treino (dias/semana) | 4,4 ± 1,3   | 3,9 ± 1,3        |
| Volume de treino (km/semana)       | 41,4 ± 20   | 35,6 ± 13        |
| Trabalho (horas/dia)               | 7,1 ± 3,6   | 9,6 ± 2,1        |

VO<sub>2pico</sub> - consumo de oxigênio pico, FCR - frequência cardíaca de repouso. Dados apresentados como média ± desvio padrão dos valores de delta percentual. RX (n=06); XX (n=04).

**Tabela 2** - Efeitos da suplementação com suco de uva sobre o desempenho físico e o balanço redox de corredores recreacionais grupados de acordo com os genótipos para ACTN3 R577X.

|                                         | RR (n = 16) | XX + RX (n = 10) |
|-----------------------------------------|-------------|------------------|
| Tempo de exaustão (min)                 | 5,8 ± 10,6  | 8,8 ± 13,7       |
| CAOT (%)                                | 1,7 ± 7,9   | 5,5 ± 5,5        |
| SOD (U/ul)                              | 2,2 ± 5,4   | 1,0 ± 4,1        |
| Carbonilação de proteínas (nmol/mg ptn) | - 1,0 ± 1,8 | - 0,6 ± 2,0      |
| MDA (µmol/L)                            | 0,1 ± 0,7   | - 0,1 ± 0,6      |

CAOT - Capacidade AntiOxidante Total; SOD – superóxido dismutase; MDA – malondialdeído. Dados apresentados como média ± desvio padrão dos valores do delta absoluto entre o momento inicial e pós-suplementação.

**Tabela 3** – Consumo alimentar, características psicométricas, qualidade do sono e recuperação dos atletas do grupo experimental genotipado para ACTN3 R577X nos momentos pré-teste inicial e final.

|                                            | RR (n = 16)       |                 | XX + RX (n = 10)  |                 |
|--------------------------------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
|                                            | Pré-teste inicial | Pré-teste final | Pré-teste inicial | Pré-teste final |
| <b>Consumo Alimentar</b>                   |                   |                 |                   |                 |
| Energia (kcal/kg/d)                        | 34,4 ± 8,5        | 32,1 ± 10,6     | 34,3 ± 11,8       | 35,2 ± 10,9     |
| Carboidrato (g/kg/d)                       | 4,7 ± 1,6         | 4,4 ± 1,8       | 4,3 ± 1,7         | 4,6 ± 2,2       |
| Proteína (g/kg/d)                          | 1,6 ± 0,5         | 1,0 ± 0,3       | 1,8 ± 0,8         | 1,1 ± 0,3       |
| Lipídios (g/kg/d)                          | 1,1 ± 0,4         | 1,6 ± 0,8       | 1,1 ± 0,4         | 1,7 ± 0,3       |
| Vitamina A (RE/d)                          | 522,2 ± 448,0     | 443,6 ± 479,3   | 661,3 ± 511       | 612,5 ± 371,6   |
| Vitamina C (mg/d)                          | 133,8 ± 130,6     | 161,5,5 ± 114,5 | 152,0 ± 113,5     | 71,5 ± 44,1     |
| Vitamina D (mcg/d)                         | 2,4 ± 2,0         | 2,9 ± 2,4       | 3,0 ± 1,6         | 3,5 ± 3,0       |
| Vitamina E (mg/d)                          | 8,4 ± 4,2         | 9,4 ± 5,5       | 10,2 ± 7,3        | 16,2 ± 12,9     |
| Cobre (mg/d)                               | 0,9 ± 0,4         | 2,2 ± 3,8       | 0,9 ± 0,4         | 1,3 ± 0,7       |
| Selênio (µcg/d)                            | 61,1 ± 39,8       | 64,8 ± 61,2     | 74,7 ± 53,6       | 75,8 ± 79,8     |
| Manganês (mg/d)                            | 102,4 ± 128,4     | 138,0 ± 184,9   | 131,1 ± 134,4     | 124,6 ± 129,8   |
| Zinco (mg/d)                               | 12,3 ± 6,4        | 12,0 ± 5,7      | 9,6 ± 4,3         | 12,8 ± 6,7      |
| <b>Sono, Humor, Recuperação e Estresse</b> |                   |                 |                   |                 |
| Sono (horas/d)                             | 8,2 ± 1,1         | 8,8 ± 2,8       | 8,4 ± 1,9         | 7,8 ± 1,1       |
| ESD-BR (score)                             | 6,3 ± 1,9         | 6,8 ± 3,6       | 6,4 ± 4,7         | 7,3 ± 5,0       |
| PTH (score)                                | 85,4 ± 15,5       | 84,7 ± 11,3     | 88,9 ± 7,3        | 98,4 ± 20,0     |
| Estresse Geral (score)                     | 0,8 ± 1,0         | 0,7 ± 0,7       | 0,9 ± 0,8         | 1,0 ± 0,9       |
| Fadiga (score)                             | 1,7 ± 1,4         | 1,7 ± 1,1       | 2,2 ± 1,1         | 2,3 ± 0,7       |
| Recuperação Física (score)                 | 3,4 ± 1,0         | 3,8 ± 0,9       | 3,9 ± 1,2         | 3,7 ± 1,4       |
| Bem estar geral (score)                    | 3,4 ± 1,4         | 3,6 ± 1,1       | 4,5 ± 0,6         | 4,0 ± 1,3       |

ESD-BR – Escala de Sonolência Diurna-Brasileira; PTH – Perturbação Total de Humor. Dados apresentados como média ± erro padrão da média.

## **ANEXOS**

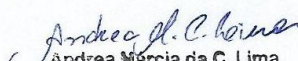
**ANEXO A - CERTIDÃO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA**

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 1ª Reunião realizada no dia 09/02/2017, o Projeto de pesquisa intitulado: **“INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS NOS GENES SD3, PPAR $\gamma$  E ACTN3 SOBRE ESTRESSE OXIDATIVO, METILAÇÃO DO DNA E DESEMENTO EM CORREDORES SUPLEMENTADOS COM SUCO DE UVA TINTO”**, da pesquisadora Lydiane Tavares Toscano. Protocolo nº 0634/16. CAAE: 59877916.8.0000.5188.

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