

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 11/08/2020.

Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Suplementação de açaí em ciclistas: efeitos
sobre marcadores inflamatórios, oxidativos e
capacidade aeróbia**

Sara Ivone Barros Morhy Terrazas Souza

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciências Nutricionais.

Orientadora: Profa. Dra. Ellen Cristini de Freitas.

Araraquara

2018

Suplementação de açaí em ciclistas: efeitos sobre marcadores inflamatórios, oxidativos e capacidade aeróbia

Sara Ivone Barros Morhy Terrazas Souza

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciências Nutricionais.

Orientadora: Profa. Dra. Ellen Cristini de Freitas.

Araraquara

2018

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

S729s

Souza, Sara Ivone Barros Morhy Terrazas.

Suplementação de açaí em ciclistas: efeitos sobre marcadores inflamatórios, oxidativos e capacidade aeróbia / Sara Ivone Barros Terrazas Souza. -- Araraquara, 2018.

72 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração: Ciências Nutricionais.

Orientadora: Ellen Cristini de Freitas.

1. Açaí. 2. Antocianinas. 3. Antioxidante. 4. Exercício. 5. Capacidade aeróbia.
I. Freitas, Ellen Cristini de, orient. II. Título.

CAPES: 50700006



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: SUPLEMENTAÇÃO DE AÇAÍ EM CICLISTAS: EFEITOS SOBRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, OXIDATIVOS E CAPACIDADE AERÓBIA

AUTORA: SARA IVONE BARROS MORHY TERRAZAS SOUZA

ORIENTADORA: ELLEN CRISTINI DE FREITAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área de conhecimento: Nutrição pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELLEN CRISTINI DE FREITAS
Escola de Educação Física e Esporte / Câmpus de Ribeirão Preto da USP

Prof. Dr. JOSE RODRIGO PAULI
Departamento de Ciência da Saúde / Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Ciências Aplicadas de Limeira / SP

Dra. FLÁVIA GIOLO DE CARVALHO
Escola de Educação Física e Esportes / Câmpus de Ribeirão Preto da USP

Prof. Dr. ENRICO FUINI PUGGINA
Escola de Educação Física e Esporte / Câmpus de Ribeirão Preto da USP

Prof. Dr. ERICK PRADO DE OLIVEIRA
Faculdade de Medicina / Universidade Federal de Urberlândia

Araraquara, 11 de dezembro de 2018

Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Câmpus de Araraquara -
Rodovia Km 1 , 14800903, Araraquara - São Paulo

[http://www2.fcfar.unesp.br/#!/pos-graduacao/alimentos-e-nutricao/CNPJ: 48.031.918/0025-00.](http://www2.fcfar.unesp.br/#!/pos-graduacao/alimentos-e-nutricao/CNPJ:48.031.918/0025-00)

Agradecimentos Pessoais

Em primeiro lugar agradeço a Deus por proporcionar as condições necessárias para que este trabalho fosse executado com sucesso. Por me conceder sabedoria e iluminar meus passos a cada desafio, por inúmeras vezes resolver por mim os problemas que pareciam surgir de uma fonte inesgotável, e por dar-me paz de espírito e equilíbrio para prosseguir.

Agradeço aos meus pais (Werner e Letícia Terrazas) que incentivaram minha jornada acadêmica, doando do seu tempo e recursos para que eu tivesse sucesso em todos os meus projetos de vida. Agradeço também aos meus irmãos (Samyra e Werner Terrazas Filho) e cunhados (Sauro e Ane) por aliviarem meus fardos sempre que possível.

Agradeço em especial meu esposo Eder Souza, pela paciência, compreensão, ajuda com a execução da pesquisa e por cuidar tão bem dos nossos filhos durante minhas ausências.

Agradeço aos meus filhos (Ivan e Maya), que foram minha motivação para concluir o doutorado.

Agradeço aos meus amigos (Flávia, Priscila, Milena, Gabriela, Camila, Bryan e Tales) por não medirem esforços em meu auxílio, oferecendo um ombro amigo e ajuda técnica nos momentos mais delicados do processo de doutoramento, que é tão desafiador.

Agradeço também a família Giolo, pela amizade e acolhida em Ribeirão Preto, por terem me recebido e cuidado como um membro da família. Seu suporte foi essencial para o sucesso dessa empreitada.

Agradeço ainda aos amigos Matheus Ferreira e Gislaine Ortiz pela amizade e apoio durante esta jornada acadêmica.

Meus sinceros agradecimentos a todos!

Agradecimentos

Agradeço a minha orientadora, Professora Dra. Ellen Cristini de Freitas, que desde o mestrado acompanha meu trabalho, pela paciência, conselhos, por me conceder oportunidades de crescimento profissional e também pela amizade que desenvolvemos neste árduo processo.

A todos aos meus colegas de laboratório e voluntários da pesquisa que não mediram esforços em me auxiliar com a execução prática da pesquisa, em especial ao amigo Bryan pela execução dos testes físicos com os voluntários.

Ao amigo Matheus Ferreira pelo auxílio no processo de envase da polpa de açaí.

Meus sinceros agradecimentos ao professor Dr. Marcelo Papoti e seus alunos e ao professor Dr. Paulo Santiago, por concederem os equipamentos de simulação de treino para execução dos testes físicos com os voluntários desta pesquisa e pelo apoio durante a coleta de dados.

Agradeço também à professora Dra. Lusânia Antunes e ao Vinícius Venâncio pelo suporte na execução das análises do teste do cometa.

À colega Daniele Gonçalves pelo auxílio com as análises laboratoriais de interleucinas, bem com ao prof. Dr. Paulo Inácio por disponibilizar os equipamentos de laboratório para execução destas análises.

Agradeço à professora Dra. Maricely Uria Toro e seus alunos, ao Prof. Dr. Werner Terrazas, bem como à Universidade do estado do Pará – UEPA, pelo apoio na execução das análises químicas da polpa de açaí.

A professora Dra. Thais Borges César por disponibilizar sua estrutura de laboratório e reagentes para execução dos testes de TBARS e ABTS, e à Dra. Ana Lucia Martiniano Nasser, pelo auxílio com as análises.

A todos os professores de disciplinas e supervisores de estágio de docência que tive durante esta jornada acadêmica, pela transferência de conhecimento e por compartilharem experiências.

Ao professor Dr. Enrico Puggina, que tem acompanhado minha jornada acadêmica desde o mestrado, sempre concedendo sugestões pertinentes para a melhoria da qualidade do trabalho final.

Agradeço à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - Unesp e ao Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição pela formação e graduação a mim concedidos. À Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto - USP, à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP pela estrutura física e recursos disponibilizados para a execução da pesquisa, bem como a todos os funcionários das mencionadas instituições, que de alguma forma contribuíram para a qualidade desta pesquisa.

Em especial, agradeço às funcionárias da seção de pós-graduação da FCFAr - Unesp pelo zelo e paciência em sempre conceder informações pertinentes e por cuidarem de todo processo administrativo envolvido na formação dos alunos.

Por último, e não menos importante, gostaria de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) (Código de Financiamento 001) pelo suporte financeiro para execução deste trabalho, bem como ao Grupo Petruz Fruity pela confiança em conceder a polpa de açaí pasteurizada para que esta pesquisa fosse realizada.

À todos os envolvidos na construção, no desenvolvimento e finalização desse trabalho, que possamos colher bons frutos!

Epígrafe

"Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável, para aprender a conhecer a influência libertadora do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer."

Albert Einstein

Resumo

Objetivo: Investigar os efeitos da suplementação com polpa açaí sobre marcadores bioquímicos de estresse oxidativo, inflamação e de capacidade aeróbia, que podem influenciar o desempenho de atletas de resistência.

Métodos: Foi realizado um estudo crossover randomizado, placebo controlado, com “wash-out” de 30 dias. Dez atletas ciclistas (Idade: $33,5 \pm 4,7$ anos; IMC: $23,99 \pm 1,38 \text{ kg/m}^2$; treino: 200km/semana) receberam suplementação com 400g/dia de polpa de açaí pasteurizada (AÇ) ou 400g/dia de placebo (PL) durante 15 dias. Antes e após cada período de suplementação foram avaliados peroxidação lipídica (MDA), capacidade antioxidante do soro, danos no DNA em sangue periférico (teste do cometa), IL-6 e TNF- α e registro alimentar, além de ser realizado teste incremental em cicloergometro, a fim de avaliar modificações no desempenho físico e capacidade aeróbia. A rotina de treino diária foi registrada durante as fases de intervenção. Os dados obtidos foram analisados utilizando modelo de regressão linear com efeitos mistos ($p \leq 0,05$).

Resultados: Após a suplementação AÇ houve aumento da capacidade antioxidante do soro ($p=0,006$) e redução da peroxidação lipídica ($p=0,01$). Não houve modificação dos marcadores inflamatórios. Mesmo sem aumento da carga máxima alcançada durante o teste incremental, após a intervenção com AÇ foi observado redução de 29% ($p=0,025$) sobre a concentração de lactato sanguíneo a 300 watts de potência em comparação ao teste inicial, e de 28% ($p=0,028$) comparado ao pós PL. Houve também aumento da ILan em resposta a suplementação com polpa de açaí (AÇ-Pré: $223,85 \pm 17,11 \text{ W}$; AÇ-Pós: $244,29 \pm 12,61 \text{ W}$; $p=0,006$; PL-Pré: $220,05 \pm 23,84 \text{ W}$; PL-Pós: $230,71 \pm 13,93 \text{ W}$; $p=0,133$). Não foi observado efeito protetor do AÇ sobre os danos oxidativos no DNA.

Conclusão: A suplementação AÇ contribuiu para minimizar a peroxidação lipídica, mas não protegeu contra os danos oxidativos presentes no DNA. O AÇ também esteve relacionado a menores elevações na concentração de lactato sanguíneo durante o teste incremental e ao aumento da ILan, sinalizando melhoria da capacidade aeróbia dos atletas ciclistas, e sustentando a hipótese de que suplementação com pequenas doses de múltiplos antioxidantes contidos no AÇ, pode favorecer respostas adaptativas ao treinamento em atletas de resistência.

Palavras-chave: Açaí; Antocianinas; Antioxidante; Exercício; Capacidade aeróbia.

Abstract

Objective: To investigate the effects of açai pulp supplementation on oxidative stress, inflammation and aerobic capacity markers, which may influence the performance of endurance athletes. **Methods:** A 30-day randomized, placebo-controlled and cross-over design was performed. Ten cyclist athletes (Age: 33.5 ± 4.7 y, BMI: 23.99 ± 1.38 kg/m², training: 200 km / week) were supplemented with 400g/day of pasteurized açai pulp (AÇ) or 400g/day of placebo (PL) for 15 days. Lipid peroxidation (MDA), serum antioxidant capacity, DNA damage in peripheral blood (comet assay), IL-6 and TNF α and food register, were evaluated before and after each supplementation period. In addition, an incremental test on cycle-ergometer was done, in order to evaluate changes on physical performance and aerobic capacity. The daily training routine was recorded during the intervention trials. Data were analyzed using a linear regression model with mixed effects ($p \leq 0.05$). **Results:** After supplementation, serum antioxidant capacity ($p=0.006$) and reduction of lipid peroxidation ($p=0.01$) were observed. There was no change in inflammatory markers. Even without increasing of the maximum load reached during the incremental test, a reduction of 29% ($p=0.025$) on the blood lactate concentration at 300 watts compared to the initial test, and 28% ($p=0.028$) in relation to post-PL. Also, there was an increase on intensity of anaerobic threshold in response to supplementation with AÇ (Pre-AÇ: 223.85 ± 17.11 W; Post-AÇ: 244.29 ± 12.61 W; $p=0.006$; Pre-PL: 220.05 ± 23.84 W; Post-PL: 230.71 ± 13.93 W; $p=0.133$). No protective effect of AÇ on oxidative DNA damage was observed. **Conclusion:** AÇ supplementation contributed to minimize lipid peroxidation but did not protect against oxidative damage in DNA. AÇ was also related to lower increases in blood lactate concentration during incremental test and to the increase on intensity of anaerobic threshold, signaling improvement of the aerobic capacity in cyclist athletes, and supporting the hypothesis of that supplementation with small doses of multiple antioxidants contained in the AÇ can favor adaptative responses to training in endurance athletes.

Key-words: Açai; Anthocyanins; Antioxidant; Exercise; Aerobic capacity.

SUMÁRIO

Resumo	ix
Abstract	x
Introdução.....	12
Objetivos.....	26
Considerações Finais	27
Referências.....	28

Introdução

Açaí: características botânicas, classificações da polpa, valor de mercado e alegações de saúde

O gênero *Euterpe* possui 28 espécies localizadas nas Américas Central e do Sul e distribuídas por toda a bacia amazônica. As três espécies que ocorrem com maior frequência são *E. oleracea*, *E. precatoria* e *Euterpe edulis*. No entanto, apenas as duas primeiras têm seus frutos comercialmente utilizados (1).

E. precatoria é nativa do estado do Amazonas, popularmente conhecida como “açaí-do-Amazonas” ou “Juçara”, é encontrado na Bacia do Rio Amazonas, em uma área de terras altas e planícies, comumente encontrada no sul do equador e especialmente na Amazônia ocidental (2). *E. oleracea*, popularmente conhecida como “açaí-do-Pará”, é encontrada principalmente em terras baixas e em terras alagáveis do estuário do rio Amazonas, nos estados brasileiros do Pará, Maranhão, Tocantins, Amapá e também na Guiana e na Venezuela. (2,3).

As espécies também diferem morfologicamente. A palmeira de *E. precatoria* tem uma altura média de 20 m e possui caule único. Os frutos são globosos, medindo de 0,9 a 1,3 cm de diâmetro, de coloração verde quando imaturos, vermelhos no estágio intermediário e roxo escuro quando maduros. *E. oleracea* é uma palmeira multicaule, com até 25 hastes por touceira. Em sua forma adulta, os troncos medem entre 3 e 20 m e um

diâmetro de 7 a 18 cm. Em seu estado maduro, os frutos apresentam coloração roxa escura e diâmetro em torno de 13,5 mm (4). Na colheita, é possível diferenciar as espécies através das características botânicas da palmeira e também pelo tamanho da fruta, mas quando a polpa está preparada para o consumo, não é possível saber qual tipo de açaí está sendo consumido (1) (Figura 1).

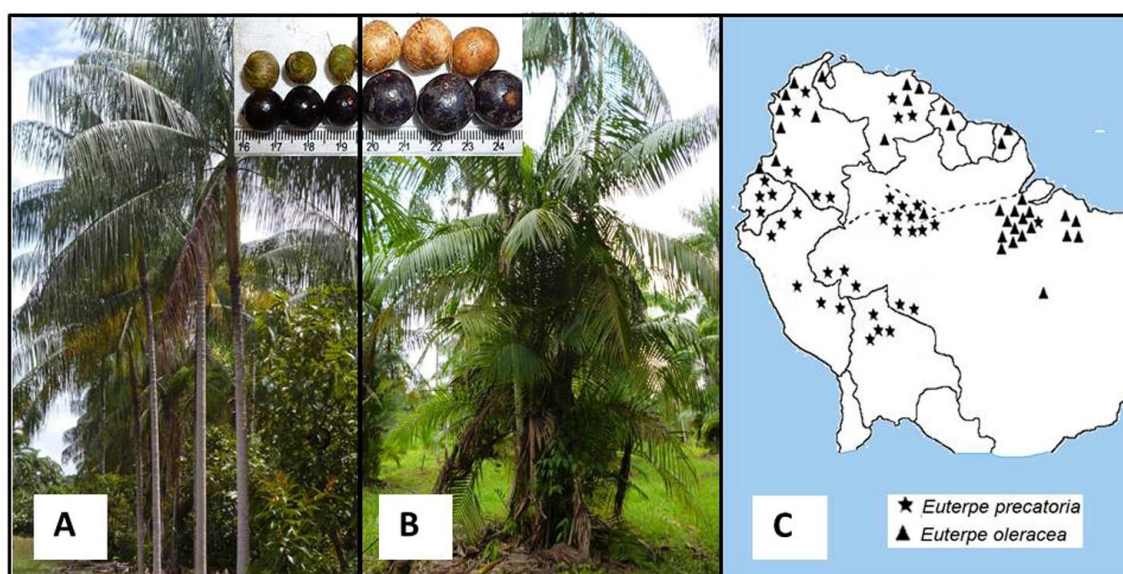


Figura 1. Sementes e palmeiras de (A) *E. precatoria* e (B) *E. oleracea* e (C) distribuição botânica das duas espécies (1).

Ainda com relação ao fruto no estado maduro, em ambas as espécies o epicarpo é uma camada muito fina e o mesocarpo tem por volta de 1–2 mm de espessura, sendo que a semente representa a maior parte do volume da fruta, cerca de 80-95% (5,6) (Figura 2).

Polpa de açaí é o produto extraído da parte comestível do fruto do açazeiro após amolecimento através de processos tecnológicos adequados

(7). O despulpamento do fruto é realizado em despulpadores verticais específicos para a extração do açaí. Possuem forma cilíndrica, são dotados de peneira na parte inferior e podem ser de vários tamanhos. Nesse processo, o despulpamento se dá em decorrência do atrito entre os frutos, as paredes e as pás do despulpador, em velocidade constante e com adição de água, cuja quantidade depende do tipo de açaí que se deseja obter (8).



Figura 2. Corte transversal dos frutos de *Euterpe* no estado maduro, com vistas das camadas de epicarpo, mesocarpo, endocarpo e da semente (adaptado).

Segundo as normas do ministério da agricultura, o açaí está classificado de acordo com a adição de água durante o processo de despulpamento, em tipo A, B e C. O tipo A é o açaí grosso ou especial em que a polpa foi extraída com adição de água e filtração, apresentando acima de 14% de sólidos totais e uma aparência muito densa. O Tipo B é o açaí médio ou regular, em que a polpa foi extraída com adição de água e

filtração, apresentando acima de 11 a 14% de sólidos totais e uma aparência densa. E o tipo C é o açaí fino ou popular, em que a polpa é extraída com adição de água e filtração, apresentando de 8 a 11% de sólidos totais e uma aparência pouco densa (7). Para o presente estudo foi utilizado o açaí tipo A.

Segundo o IBGE, o Brasil produziu em 2011 um total de 215,4 mil toneladas de Açaí. O estado do Pará foi o principal contribuinte, com 50,8% da produção nacional. O estado do Amazonas vem em seguida, respondendo por 41,5% do total do Brasil (9). Quando combinada com a produção de todos os estados produtores brasileiros, a produção de açaí em 2011 foi de aproximadamente 215,3 mil toneladas, e o preço por tonelada de açaí era de cerca de US\$ 3,22 milhões, superando assim o preço por tonelada de soja com valor de mercado de US\$ 2,20 milhões, e também de outros produtos alimentícios exportados, como por exemplo, a castanha-do-brasil com valor de mercado de US\$ 2,41 milhões por tonelada (10).

A produção agrícola nacional de açaí em 2017 foi de 1,33 milhão de toneladas, sendo o Pará o maior estado produtor com 98,3 % do total nacional. O valor da produção foi avaliado em R\$ 5,54 bilhões (11).

Várias empresas de manufatura têm comercializado agressivamente produtos de açaí em formulações como comprimidos, sucos, bebidas energéticas entre outros, principalmente nos Estados Unidos, Europa e Japão (12). Este amplo crescimento global do consumo de açaí tem sido impulsionado pela veiculação de alegações das suas muitas propriedades essenciais importantes na nutrição humana. É fonte de energia, fibras,

antocianinas, minerais e ácidos graxos monoinsaturados (MUFA). Por essa razão, é considerado um alimento funcional, auxiliando na prevenção de diversas doenças degenerativas (13-15).

Os principais constituintes encontrados na matéria seca são lipídios (50%), fibras (25%) e proteínas (10%). A quantidade de carboidratos (glicose, frutose e sacarose) é relativamente baixa, entre 2,96% e 3,55% (1). Com relação à sua atividade farmacológica, vários estudos *in vitro* e *in vivo* tem relacionado ao açaí efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes, cardioprotetores, hipocolesterolêmicos, antígenotóxico e anticâncer (1,12).

Antocianinas: características químicas e biodisponibilidade

As antocianinas são pigmentos pertencentes à classe dos flavonoides, responsáveis por uma ampla variedade de cores em frutas e vegetais, que vão do vermelho-alaranjado, ao vermelho vivo, roxo e azul. Na natureza, encontram-se associadas a moléculas de açúcar que são derivadas de estruturas agliconas denominadas antocianidinas (16).

A estrutura básica das antocianinas é o cátion favílico (cátion 2-fenilbenzopirílio). Os diferentes tipos de antocianinas diferem entre si apenas nos grupamentos ligados aos anéis nas posições 3' (R1), 4' (R2), 5' (R3), 3 (R4), 5 (R5), 6 (R6) e 7 (R7), que podem ser átomos de hidrogênio, hidroxilas ou metoxilos (16) (Figura 3).

As antocianinas presentes no açaí representam cerca de 90% da capacidade antioxidante do fruto, sendo a cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo as antocianinas predominantes (17,18) (Figura 4).

De acordo com a farmacocinética relatada por Martens-Talcott, et al. (19), o tempo de concentração máxima das antocianinas da polpa de açaí no plasma é de 2,2 horas e meia vida de 6,56 horas.

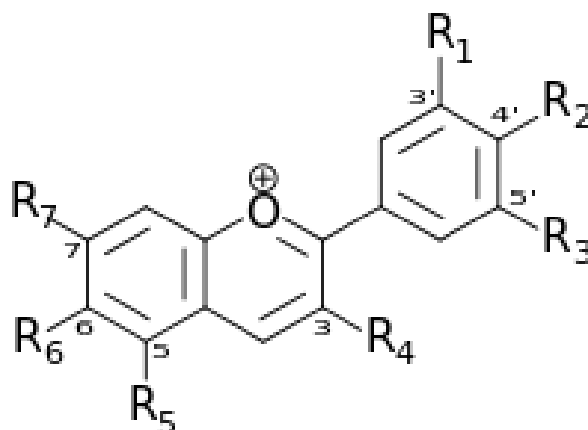


Figura 3. Estrutura básica das antocianinas (cátion 2-fenilbenzopirílio).

A estabilidade química das antocianinas possui grande importância, considerando seus benefícios para a saúde e ainda seu eventual utilização como corante natural. Sua estabilidade pode ser afetada por fatores como pH, temperatura, concentração, luz, solventes, presença de oxigênio, enzimas, outros flavonóides, proteínas e metais (20).

Estudos chegaram a demonstrar uma absorção limitada (cerca de 1%) das antocianinas, associada às suas propriedades altamente polares, à glicosilação e à presença de múltiplos grupos hidroxila como parte de sua estrutura (21-23). Além disso, foi sugerido que as antocianinas poderiam ser degradadas no ambiente de alto pH do duodeno (23). Contudo, pesquisadores indicaram que os estudos existentes parecem ter subestimado a quantidade de antocianinas absorvida, considerando estudos

recentes de farmacocinética usando antocianinas marcadas com ^{13}C , que destacaram taxas de biodisponibilidade mais altas do que o esperado e maior tempo de permanência de metabólitos relacionados às antocianinas, em específico às cianidina-3-glucoside, no sistema circulatório (24,25).

A baixa absorção relatada pelos estudos anteriores parece estar relacionada à limitação dos métodos empregados na identificação e quantificação de antocianinas e seus metabólitos em fluidos biológicos, dentre eles a avaliação indireta do cátion flavílico, que é a forma de antocianina que predomina em $\text{pH} < 2$. Como consequência, estruturas que não são capazes de regenerar este íon por reativação da amostra devido ao metabolismo *in vivo* e / ou modificações na estrutura química não serão detectadas (26). Outra questão é o potencial de degradação desses compostos durante a preparação da amostra (27) e também a ligação dos compostos e metabólitos à proteínas na corrente sanguínea (28).

Apesar de terem diferentes tamanhos moleculares e tipos de açúcar ou grupos acila ligados, as antocianinas também podem ser absorvidas intactas (20). Assim como os outros flavonoides, as antocianinas são metabolizadas originando glucurono-, sulfo- ou metil-derivados no trato gastrointestinal proximal. Mas curiosamente, pequenas quantidades de compostos não metabolizados também foram identificados na circulação sistêmica e na urina. Embora um mecanismo para a absorção de antocianinas glicosiladas ainda seja altamente especulativo (29), transportadores de estômago, transportadores intestinais de glicose e a permeabilidade da junção estreita têm sido citados como possíveis

mecanismos de transporte (30-32). No entanto, a grande maioria dos estudos em animais e dados de farmacocinética humana sugerem que o intestino é o principal local de absorção de antocianinas (25,29,32). Apesar da presença de glicosídeos de antocianinas e metabólitos conjugados de fase II na circulação, a maioria das antocianinas absorvidas está presente como produtos de menor peso molecular oriundos de degradação química e microbiana (24,25,33).

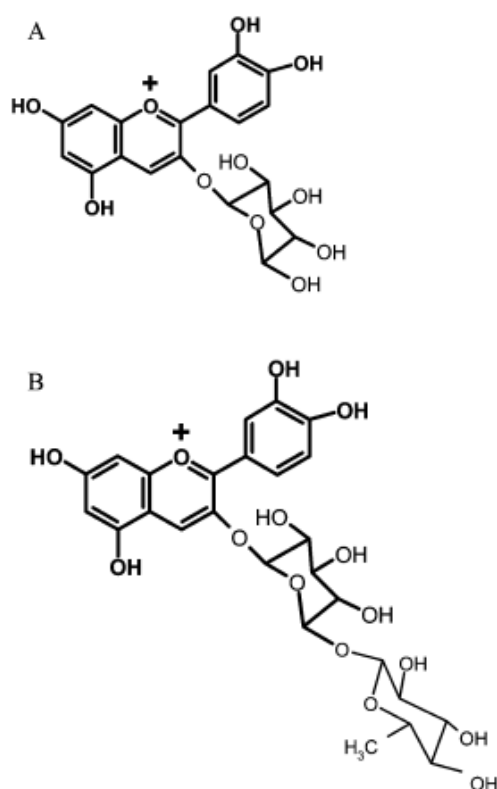


Figura 4. Estruturas químicas da cianidina-3-O-glicosídeo (A) e cianidina-3-O-rutinosídeo (B) (19).

Fosfolipídios e terpenos têm sido relatados como auxiliares no transporte transepitelial de antocianinas isoladas do açaí (34). Neste sentido, quando presentes em um sistema alimentar (abacate, chocolate e polpa de

açaí) os fosfolipídios podem promover o transporte de antocianinas através da barreira intestinal pela fusão com membranas lipídicas (35). No caso dos terpenos, podem agir no trato gastrointestinal por meio da criação de passagens temporárias nos epitélios gástricos através de interações com a membrana (34).

O destino biológico dos metabólitos de antocianinas, segundo a visão tradicional do metabolismo xenobiótico, sugere que a conjugação metabólica torna os sítios reativos inertes ou de polaridade aumentada, resultando em rápida eliminação. Entretanto, o impacto sobre a atividade biológica de tais mudanças estruturais marcantes sobre a massa e polaridade do flavonoide é difícil de prever. Recentemente foi levantada uma hipótese de que a bioatividade das antocianinas resulta dos altos e persistentes níveis de circulantes de metabólitos fenólicos de baixo peso molecular (36,37). Para testar essa hipótese, a bioatividade da cianidin-3-O-glicosídeo foi testada em relação a 21 de seus subprodutos catabólicos usando modelos celulares endoteliais vasculares, musculares lisos e monócitos. Os resultados indicaram que a antocianina original foi, na maioria dos casos, menos ativa do que seus catabólitos fenólicos. Em termos gerais, a evidência desta investigação sugere que a bioatividade das antocianinas *in vivo* resulta da exposição a uma variedade de catabólitos, modulando várias vias de inflamação e adesão celular (38).

Exercício e suplementação antioxidante

Nas modalidades de esportes de resistência, como corrida, ciclismo e triatlo, os atletas costumam realizar muitas horas por semana de treinamento em exercícios aeróbicos. Este tipo de treinamento depende do uso de oxigênio no músculo esquelético para fornecer energia durante essas atividades (39).

O ciclismo de estrada profissional é um esporte de extrema resistência. Em algumas fases deste esporte a intensidade do exercício chega a ser muito elevada, em que o ciclista profissional deve completar períodos prolongados de exercício, com subidas em montanhas altas e contra-relógio, a altas porcentagens (~ 90%) do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx) e acima do limiar anaeróbio. Diversos estudos têm analisado as respostas fisiológicas de ciclistas de estrada de nível amador, porém evidências sugerem que suas descobertas podem não ser diretamente extrapoladas para o ciclismo profissional. Um exemplo disso ocorre ao comparar altas cargas de trabalho em que tanto o limiar ventilatório quanto o ponto de compensação respiratório ocorrem. Neste aspecto o ciclista profissional apresenta aproximadamente 65% e 90% do VO_2 máx para essas variáveis respectivamente, enquanto que ciclistas amadores apresentam em torno de 60% e 80% do VO_2 máx respectivamente, onde se observa uma marcada diferença entre esses valores, sugerindo que tais variáveis submáximas podem ser fatores

importantes de desempenho em eventos de resistência, como corridas profissionais (40).

Com relação à natureza oxidativa do treinamento de resistência, quando as cargas de treinamento são muito altas pode haver aumento exacerbado da produção de radicais livres, e neste caso, as defesas antioxidantes se fazem necessárias para proteger as células dos danos causados pelos radicais livres. Esse potencial para danificar as células é descrito como estresse oxidativo e pode resultar em uma resposta inflamatória do sistema imunológico e comprometer o desempenho do atleta. Além disso, o acúmulo de espécies reativas de oxigênio também causa danos oxidativos ao DNA (39,41).

Neste sentido, existe uma quantidade substancial de evidências de que as cargas de treinamento de resistência de alta intensidade ou de duração prolongada estimulam o aumento da produção de radicais livres e o estresse oxidativo (42). Este efeito também foi demonstrado em atletas competindo em eventos de ultra-resistência, incluindo ultra-maratonas e triatlo *ironman*. Claramente, os atletas precisam equilibrar as cargas de treinamento para evitar um risco elevado de fadiga, doença ou lesão (43,44).

Embora o estresse oxidativo possa resultar em uma resposta inflamatória, também é possível que os radicais livres desempenhem um importante papel fisiológico nas adaptações de treinamento. Nos últimos anos tem havido um debate a respeito do consumo excessivo de

antioxidantes como agente redutor das respostas adaptativas relacionadas ao treinamento (45).

Existem várias opções de suplementos antioxidantes disponíveis para atletas que desejam aumentar sua ingestão de antioxidantes, tanto por meio de fontes alimentares como de antioxidantes isolados. Suplementos antioxidantes são cada vez mais promovidos na comunidade geral e esportiva, utilizando diversas alegações relacionadas à melhor disponibilidade de energia, rápida recuperação pós-exercício, melhor saúde cardiovascular e imunológica (39).

Vários suplementos antioxidantes baseados em alimentos tem se revelado promissores em melhorar os resultados durante o exercício, incluindo mirtilos, suco de cereja e açaí (46-48).

O consumo de mirtilos por indivíduos bem treinados durante seis semanas e antes do exercício prolongado (2,5 h de corrida) também foi demonstrado, e resultou em maior contagem de células NK pós-exercício e uma concentração aumentada de citocinas anti-inflamatórias em comparação com um grupo controle (46). Embora não associado ao exercício, é interessante considerar o efeito da suplementação com bebida contendo 25g de mirtilos selvagens liofilizados durante seis semanas em homens com fatores de risco cardiovascular, sobre a redução nos níveis de bases de DNA oxidadas endogenamente em comparação ao placebo (49).

Em atletas, a suplementação com suco de cereja por sete dias, antes e após o treino, melhorou substancialmente a recuperação pós-

exercício de força isométrica em comparação com o placebo (47). Ainda, a suplementação de atletas com bebidas formuladas à base de açaí mostrou melhora da capacidade antioxidante plasmática, perfil lipídico sérico (48), percepção de esforço e resposta cardiorrespiratória, além de atenuar o estresse metabólico induzido pelo exercício (50).

A suplementação com doses de antioxidantes isolados também foi avaliada. A quercetina é um dos poucos suplementos antioxidantes que foi examinado em vários estudos e demonstrou um benefício de desempenho consistente. Em um estudo de desempenho de corrida, em que indivíduos não treinados foram suplementados com 1000 mg dia de quercetina durante duas semanas, foi observado aumento na distancia percorrida em um teste de esteira de 12 minutos e aumento de DNA mitocondrial muscular comparado ao placebo (51). Em outro estudo, o consumo máximo de oxigênio e o tempo de fadiga aumentaram após sete dias de suplementação de quercetina em comparação ao placebo (52), novamente em indivíduos não treinados, por isso não está claro se esse benefício seria visto em atletas altamente treinados.

Um estudo conduzido com atletas suplementados por 14 dias com 20g de melatonina como antioxidante, apresentaram melhora do estado antioxidante geral acompanhada de redução dos danos oxidativos ao DNA (53) (Figura 5). No entanto ainda há dúvidas quanto ao benefício e até mesmo à segurança da suplementação com um antioxidante único em alta dose. Um exemplo disso é relatado por estudos com suplementação isolada de vitamina E na forma de α -tocoferol, que contraditoriamente aumentaram

marcadores de estresse oxidativo comparado com placebo, durante o Campeonato Mundial de Triatlo (54).

Diante do exposto, ainda há controvérsias a respeito dos efeitos da suplementação antioxidante em atletas, e até o momento ainda não está bem consolidado na literatura se os antioxidantes aumentam ou atenuam as respostas adaptativas ao treinamento e os possíveis mecanismos subjacentes a essa observação (55).

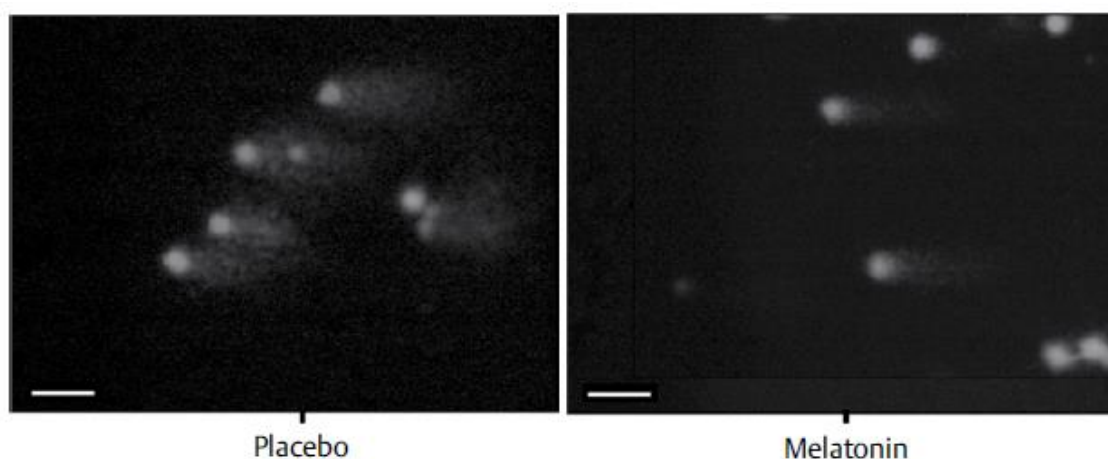


Figura 5. Quantificação do dano ao DNA expresso em porcentagem da intensidade da cauda medida no pós-exercício após a suplementação antioxidante com melatonina ou placebo (53).

Tendo em vista a natureza oxidativa do ciclismo de estrada, associada às elevadas demandas antioxidantes deste esporte de resistência, e considerando os efeitos positivos da suplementação antioxidante baseada em alimentos sobre variáveis que impactam no desempenho físico durante o exercício, é provável que as notáveis propriedades antioxidantes da polpa de açaí possam ser úteis em atenuar os

efeitos do estresse oxidativo decorrentes do exercício intenso, bem como minimizar processos inflamatórios e agir sobre variáveis de capacidade aeróbia, que afetam o desempenho de ciclistas.

Objetivos

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da suplementação com polpa açai sobre marcadores oxidativos, inflamatórios e de capacidade aeróbia que podem influenciar no desempenho físico de atletas ciclistas, por meio dos seguintes parâmetros:

- Quantificação da peroxidação lipídica (em termos de malondialdeído) e capacidade antioxidante do soro como indicadores de estresse oxidativo, antes e após os períodos de suplementação.
- Determinação do dano ao DNA expresso em porcentagem da intensidade da cauda (teste do cometa) a partir do sangue periférico, antes e após os períodos de suplementação.
- Quantificação de marcadores inflamatórios (IL-6 e TNF- α) antes e após os períodos de suplementação.
- Análise do desempenho físico através da avaliação da capacidade aeróbia dos ciclistas antes e após os períodos de suplementação.
- Avaliação quantitativa da ingestão alimentar dos ciclistas, antes e durante os períodos de suplementação.

Considerações Finais

Ainda existem controvérsias a respeito do uso de suplementos antioxidantes no exercício, pois não está esclarecido se eles aumentam ou atenuam as respostas adaptativas ao treinamento e os possíveis mecanismos subjacentes a essa questão. Porém, nossas observações sustentam a hipótese de que a suplementação com pequenas doses de múltiplos antioxidantes oriundos de alimentos, a exemplo das antocianinas e outros polifenóis presentes na polpa de açaí, é capaz de modular o estado antioxidante e a capacidade aeróbia em atletas ciclistas, em razão das demandas antioxidantes elevadas relativas ao treinamento de resistência.

Referências

1. Yamaguchi KKL, Pereira LFR, Lamarão CV, Lima ES, da Veiga-Junior VF. Amazon açai: chemistry and biological activities: a review. *Food Chem.* 2015; 179: 137-51.
2. Choi WS, Lee SE, Lee HS, Lee YH, Park BS. Antioxidative activities of methanol extracts of tropical and oriental medicinal plants. *Han'guk Nonghwa Hakhoechi.* 1998; 41: 556–559.
3. Muñiz-Miret N, Vamos R, Hiraoka M, Montagnini F, Mendelsohn RO. The economic value of managing the acai palm (*Euterpe oleracea* mart.) in the floodplains of the Amazon estuary, Para, Brazil. *Forest Ecol Management.* 1996; 87: 163–173.
4. Henderson, A. *The Palms of the Amazon.* New York: Oxford University Press; 1995.
5. Pompeu DR, Silva EM, Rogez H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using response surface methodology. *Biores Technol.* 2009; 100: 6076–6082.
6. Sabbe S, Verbek W, Deliza R, Matta V, Van Damme P. Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Appetite.* 2009; 53: 84–92.
7. Brasil. Instrução Normativa nº 12, de 7 de janeiro de 2000. Estabelece o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).
8. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Despulpamento do açai [Internet]. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/acai>.
9. IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Contas Regionais do Brasil 2008 [Internet]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>.

10. CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO [Internet]. Política de garantia de preços mínimos. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>.
11. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Boletim PAM 2017. Prod. Agric. Munic., Rio de Janeiro, v. 44, p. 1-8, 2017. ISSN 0101-3963 © IBGE, 2018.
12. Heinrich M, Dhanji T, Casselman I. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.)—A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. *Phytochem Letters*. 2011; 4(1): 10–21.
13. Pacheco-Palencia LA, Talcott ST. Chemical stability of açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. *Food Chem*. 2010; 118: 17–25.
14. Rosso VV, Hillbrand S, Montilla EC, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. *J Food Comp Analysis*. 2008; 21: 291–299.
15. Yuyama LKO, Aguiar JPL, Filho DFS, Yuyama K, Varejão MJ, Fávares DIT, et al. Physicochemical characterization of açai juice of *Euterpe precatoria* Mart. from different Amazonian ecosystems. *Acta Amazônica*. 2011; 41: 545–552.
16. Okumura F, Soares MHFB, Cavalheiro ETG. *Química Nova*. 2004; Vol. 25.
17. Del Pozo-Insfran D, Brenes CH, Talcott ST. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *J Agric Food Chem*. 2004; 52: 1539–1545.
18. Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chem*. 2009; 115: 1199-1205.
19. Mertens-Talcott SU, Rios J, Jilma-Stohlawetz P, Pacheco-Palencia LA, Meibohm B, Talcott ST, Derendorf H. (2008). Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich

- açai juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in Human Healthy Volunteers. *J Agric Food Chem.* 2008; 56(17): 7796–7802.
20. Fang J. Bioavailability of anthocyanins. *Drug Metab Rev.* 2014; 46(4): 508–520.
21. Ichiyanagi T, Shida Y, Mamunur Rahman M, Sekiya M, Hatano Y, Matsumoto H, et al. Effect of both aglycones and sugar moiety towards phase II metabolism of anthocyanins. *Food Chem.* 2008; 110: 493–500.
22. Steinert RE, Ditscheid B, Netzel M, Jahreis G. Absorption of black currant anthocyanins by monolayers of human intestinal epithelial Caco-2 cells mounted in using type chambers. *J Agric Food Chem.* 2008; 56: 4995–5001.
23. Yi W, Akoh CC, Fischer J, Krewer G. Absorption of anthocyanins from blueberry extract by Caco-2 human intestinal cell monolayers. *J Agric Food Chem.* 2006; 54: 5651–5658.
24. Czank C, Cassidy A, Zhang Q, Morrison DJ, Preston T, et al. Human metabolism and elimination of the anthocyanin, cyanidin-3-glucoside: a ¹³C-tracer study. *Am J Clin Nutr.* 2013; 97: 995–1003.
25. de FerrarsRM, Czank C, Zhang Q, Botting NP, Kroon PA, et al. 2014. The pharmacokinetics of anthocyanins and their metabolites in humans. *Br J Pharmacol.* 171:3268–82.
26. Fernandes I, de Freitas V, Reis C, Mateus N. A new approach on the gastric absorption of anthocyanins. *Food Funct.* 2012; 3: 508-516.
27. Felgines C, Texier O, Besson C, Vitaglione P, Lamaison J-L, Fogliano V, et al. Influence of glucose on cyanidin 3-glucoside absorption in rats. *Mol. Nutr Food Res.* 2008; 52: 959-964.
28. Celli GB, Ghanem A, Brooks MSL. A theoretical physiologically based pharmacokinetic approach for modeling the fate of anthocyanins in vivo. *Critical Rev Food Sci Nutr.* 2016; 57(15): 3197–3207.
29. Kamiloglu S, Capanoglu E, Grootaert C, Van Camp J. Anthocyanin absorption and metabolism by human Caco-2 cells: a review. *Int J Mol Sci.* 2015; 16: 21555–74.

30. Oliveria H, Fernandes I, Brás NF, Faria A, De Freitas V, et al. Experimental and theoretical data on the mechanism by which red wine anthocyanins are transported through a human MKN-28 gastric cell model. *J Agric Food Chem.* 2015; 63: 7685–92.
31. Passamonti S, Vrhovsek U, Vanjo A, Mattivi F. The stomach as a site for anthocyanin absorption from food. *FEBS Lett.* 2003; 554: 210–13.
32. Talavéra S, Felgines C, Texier O, Besson C, Lamaison JL, et al. Anthocyanins are efficiently absorbed in the stomach of anesthetized rats. *J Nutr.* 2003; 133: 4178–82.
33. Rodriguez-Mateos AM, Vauzour D, Kreuger CG, Shanmuganayagam D, Reed JD, et al. Flavonoids and related compounds, bioavailability, bioactivity and impact on human health: an update. *Arch Toxicol.* 2014; 88: 1803–53.
34. Cardona JA, Mertens-Talcott SU, Talcott ST. Phospholipids and terpenes modulate Caco-2 transport of açai anthocyanins. *Food Chem.* 2015; 175: 267–272.
35. Williams AC, Barry BW. Penetration enhancers. *Adv Drug Delivery Rev.* 2004; 56: 603–618.
36. Warner EF, Zhang Q, Raheem KS, O'Hagan, O'Connell MA, et al. Common phenolic metabolites of flavonoids, but not their unmetabolized precursors, reduce the secretion of vascular cellular adhesion molecules by human endothelial cells. *J Nutr.* 2016; 146: 465–73.
37. Di Gesso JL, Kerr JS, Zhang Q, Raheem S, Yalamanchili SK, et al. Flavonoid metabolites reduce necrosis factor- α secretion to a greater extent than their precursor compounds in human monocytes. *Mol Nutr Food Res.* 2015; 59: 1143–54.
38. Kay CD, Pereira-Caro G, Ludwig IA, Clifford MN, Crozier A. Anthocyanins and Flavanones Are More Bioavailable than Previously Perceived: A Review of Recent Evidence. *Ann Rev Food Sci Tech.* 2017; 8(1): 155–180.
39. Elkington LJ, Gleeson M, Pyne DB, Callister R, Wood LG. Inflammation and Immune Function: Can Antioxidants Help the Endurance Athlete? In:

- Lamprecht M, editor. *Antiox Sport Nutr*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis: 2015. Chapter 11. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books>.
40. Lucia A, Hoyos J, Chicharro JL. Physiology of Professional Road Cycling. *Sports Med*. 2001; 31(5): 325–337.
41. Tomasello B, Grasso S, Malfa G, Stella S, Favetta M, Renis M. Double-Face Activity of Resveratrol in Voluntary Runners: Assessment of DNA Damage by Comet Assay. *J Med Food*. 2012; 15(5): 441–447.
42. Watson TA, Callister R, Taylor RD, Sibbritt DW, MacDonald-Wilks LK, Garg ML. Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2005; 37(1): 63–71.
43. Knez WL, Jenkins DG, Coombes JK. Oxidative stress in half and full ironman triathletes. *Med Sci Sports Exerc*. 2007; 39(2): 283–288.
44. Turner JE, Hodges NJ, Bosch JA, Alfred S. Prolonged depletion of antioxidant capacity after ultraendurance exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2011; 43(9): 1770–1776.
45. Gross M, Baum O, Hoppeler H. Antioxidant supplementation and endurance training: Win or loss? *Eur J Sports Sci*. 2011; 11(1): 27–32.
46. McAnulty LS, Nieman DC, Dumke CL, Shooter LA, Henson DA, Utter AC, Milne G, McAnulty SR. Effect of blueberry ingestion on natural killer cell counts, oxidative stress, and inflammation prior to and after 2.5 hours of running. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2011; 36: 976–984.
47. Bowtell JL, Sumners DP, Dyer A, Fox P, Mileva KN. Montgomery cherry juice reduces muscle damage caused by intensive strength exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2011; 43(8): 1544–1551.
48. Sadowska-Krępa E, Kłapcińska B, Podgórski T, Szade B, Tyl K, Hadzik A. Effects of supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry-based juice blend on the blood antioxidant defence capacity and lipid profile in junior hurdlers. A pilot study. *Biol. Sport*. 2015; 32: 161-168.
49. Riso P, Klimis-Zacas D, Del Bo' C, Martini D, Campolo J, Vendrame S. et al. Effect of a wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) drink intervention on

- markers of oxidative stress, inflammation and endothelial function in humans with cardiovascular risk factors. *Eur J Nutr.* 2013; 52: 949–961.
50. Carvalho-Peixoto J, Moura MR, Cunha FA, Lollo PC, Monteiro WD, Carvalho LM, Farinatti P de T. Consumption of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) functional beverage reduces muscle stress and improves effort tolerance in elite athletes: a randomized controlled intervention study. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2015; 40(7): 725-33.
51. Nieman DC, Williams AS, Shanely RA, Jin F, McAnulty SR, Triplett NT, Austin MD, Henson DA. Quercetin's influence on exercise performance and muscle mitochondrial biogenesis. *Med Sci Sports Exerc.* 2010; 42(2): 338–345.
52. Davis JM, Carlstedt CJ, Chen S, Carmichael MD, Murphy EA. The dietary flavanoid quercetin increases VO_2 max and endurance capacity. *Inter J Sports Nutr and Exerc Metab.* 2010; 20: 56–62.
53. Ortiz-Franco M, Planells E, Quintero B, Acuña-Castroviejo D, Rusanova I, Escames G, et al. Effect of Melatonin Supplementation on Antioxidant Status and DNA Damage in High Intensity Trained Athletes. *Inter J of Sports Med.* 2017; 38(14): 1117–1125.
54. Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty LS, Morrow JD, Ahmed A, Heward CB. Vitamin E and immunity after the Kona Triathlon World Championship. *Med Sci Sports Exerc.* 2004; 36(8): 1328–1335.
55. Mankowski RT, Anton SD, Buford TW, Leeuwenburgh C. Dietary Antioxidants as Modifiers of Physiologic Adaptations to Exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2015; 47(9): 1857–1868.