

Efeito agudo da ingestão de concentrado de uva sobre os biomarcadores do estresse oxidativo em triatletas

Acute effect of a grape concentrate intake on oxidative stress markers in triathletes

Jean Carlos Silvestre¹
Claudia Ridel Juzwiak²
Andréa Pittelli Boiago Gollücke³
Victor Zuniga Dourado²
Vânia D'Almeida⁴

Resumo – O objetivo deste estudo crossover foi avaliar o efeito de um concentrado de uva (bebida teste - BT) sobre biomarcadores do estresse oxidativo (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS, catalase – CAT, superóxido dismutase – SOD e glutatona – GSH). Seis triatletas do sexo masculino foram avaliados quanto à aptidão física, percentual de gordura (%G) e ingestão alimentar. Posteriormente, em duas ocasiões, os atletas receberam duas doses de 300 ml de BT (45,8g de polifenóis/kg) ou bebida placebo (PL) no jejum e após uma sessão de treinamento (100 km de ciclismo, 6 km de corrida e 1,5 km de natação). Amostras de sangue (5 ml) foram coletadas em jejum, imediatamente após o exercício e 1h após o mesmo. Caracterização da amostra: idade: 43,8±10,2 anos, VO₂máx: 45±5,15 ml/kg/min, %G: 13,6±4,2%, volume de treino: 270,8±87,1 km/semana e 3,1±1,88 horas/treino/dia. Houve aumento significativo da atividade de SOD da 1ª para as 2ª (p=0,027) e 3ª coletas (p=0,02) em resposta ao exercício, independente da bebida consumida. Os valores de GSH foram superiores 1 hora após o exercício quando houve consumo do PL (27,5%) em relação ao consumo da BT (1,8%). Ainda, o exercício elevou as concentrações de TBARS, mas no grupo PL os valores médios foram superiores (PL=2,5±1,2 nmol/ml vs. BT=1,77±1,3 nmol/ml). Em relação à atividade da CAT, os valores médios (BT=34,2±6,9 U/mgHb vs. PL=24,6±12,5 U/mgHb) foram menores quando comparadas 1ª e 2ª coletas (28,6%) para os atletas que consumiram PL. Os resultados referentes à concentração de TBARS, atividade de CAT e níveis de GSH sugerem que a BT modulou o estresse oxidativo induzido pelo exercício.

Palavras-chave: Atletas; Estresse oxidativo; Metabolismo; Nutrição; Triatletas; Uvas.

Abstract – The aim of this crossover study was to evaluate the effect of a grape concentrate (test drink [TD]) on oxidative stress markers (thiobarbituric acid reactive substances [TBARS], catalase [CAT], superoxide dismutase [SOD], and glutathione [GSH]). Six triathletes had their physical fitness, body fat composition (%BF) and food intake evaluated. Afterwards, the athletes received two doses of 300 mL of the TD (45.8g of polyphenols/kg) or a placebo drink (PL), at breakfast and after a training session (100 km of cycling, 6 km of running and 1.5 km of swimming). Blood samples (5 ml) were collected after an overnight fasting, immediately after exercise, and one hour after exercise. The triathletes presented the following characteristics (mean and standard-deviation): 43.8±10.2 years old, VO₂máx 45±5.15 mL/kg/min, %BF 13.6±4.2%, training 270.8±87.1 km/week, 3.1±1.88 hours/training/day. There was a significant increase in SOD from the 1st to the 2nd (p=0.027) and 3rd (p=0.02) blood tests, in response to exercise, regardless of the drink consumed. One hour after exercise, the increase in glutathione values was greater when the PL was consumed (27.5%) in relation to the TD intake (1.8%). In both tests, exercise increased TBARS values; however, when PL was consumed, subjects' values were higher (PL=2.5±1.1 nmol/ml vs. BT=1.77±1.3 nmol/ml). When PL was consumed, mean CAT values (BT=34.2±6.9 U/mgHb vs. PL=24.6±12.5 U/mgHb) reduced from the 1st to the 2nd blood test (28.6%). TBARS, CAT and GSH values suggest that the TD presents potential to modulate exercise-induced oxidative stress.

Key words: Athlete; Grapes; Metabolism; Nutrition; Oxidative stress; Triathletes.

1 Universidade Federal de São Paulo. Programa Interdisciplinar em Ciências da Saúde. Santos, SP, Brasil.

2 Universidade Federal de São Paulo. Departamento de Ciências do Movimento Humano. São Paulo, SP, Brasil.

3 Universidade Federal de São Paulo. Departamento de Biociências. Santos, SP, Brasil.

4 Universidade Federal de São Paulo. Departamento de Psicobiologia. São Paulo, SP, Brasil.

Recebido em 08/05/13
Revisado em 24/07/13
Aprovado em 13/10/13



Licença
Creative Commons

INTRODUÇÃO

A adoção de uma dieta equilibrada associada à prática regular de atividade física é considerada uma das principais estratégias para promover a saúde bem como prevenir doenças. Por outro lado, a prática de exercício físico exaustivo, por tempo prolongado ou não habitual, pode provocar uma série de efeitos negativos ao organismo, dentre eles o desequilíbrio oxidante-antioxidante (estresse oxidativo)^{1,2}.

Embora a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) represente um processo de adaptação ao exercício físico, quando em excesso, pode ser prejudicial ao atleta. As EROs podem gerar danos à célula, tais como a peroxidação lipídica, oxidação proteica e alterações no DNA, as quais podem causar mutações em longo prazo^{1,2}. Neste sentido, alguns estudos têm demonstrado modificações nos indicadores de estresse oxidativo em triatletas^{3,4}.

A administração de substâncias antioxidantes, na forma de suplementos ou em alimentos antes, durante ou após o exercício físico, tem sido investigada com o intuito de verificar quais os efeitos dessa estratégia no que se refere à modulação do estresse oxidativo³⁻⁷.

Dentre os alimentos investigados, a uva tem chamado atenção quanto ao seu conteúdo de substâncias conhecidamente antioxidantes, tais como flavonoides (quercetina), polifenóis (catequinas), derivados de estilbenos (resveratrol) e antocianinas, estas presentes tanto na sua forma *in natura* como processada (suco)^{8,9}. Seu consumo tem sido investigado tanto na área clínica⁸ como esportiva^{5,10} devido ao seu potencial efeito em melhorar a capacidade antioxidante. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do consumo do concentrado de uva sobre marcadores de estresse oxidativo após treinamento físico extenuante.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Amostra

Participaram do estudo seis triatletas do sexo masculino, com idade entre 28 e 57 anos. De acordo com os critérios de inclusão, foram avaliados somente os triatletas que participassem regularmente de competições de triatlão Ironman, meio Ironman e/ou triatlão Olímpico, que estivessem treinando, no mínimo, quatro vezes por semana e que apresentassem eletrocardiograma normal, este realizado, no máximo, três meses antes do estudo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (parecer nº1266/10) e a participação voluntária somente ocorreu após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Protocolo de coleta

Na primeira etapa, para caracterização da amostra, foi aplicada uma anamnese para identificar as características do treinamento, o uso de suplementos

e os antecedentes de saúde. A ingestão alimentar foi avaliada por meio do recordatório de 24 horas de um dia habitual de treinamento. O software Nutwin (UNIFESP, versão 1.5.2.51) foi utilizado para determinação dos consumos energético, de macro e micronutrientes (zinco, selênio, vitamina C, E e A). Também avaliou-se o consumo de outras substâncias antioxidantes (flavonoides e carotenoides)^{11,12}. O consumo de micronutrientes foi comparado com as diretrizes da Dietary Reference Intakes¹³.

Foi realizado, ainda, teste cardiorrespiratório em cicloergômetro de membros inferiores (CEFISE®, São Paulo, Brasil). O aquecimento foi de 3 minutos, sem carga, com incremento de 35 watts/minuto, até a exaustão. Durante o teste, foram monitorados o consumo de oxigênio (analisador de gases K4B2®, Cosmed, Pavona di Albano, Itália), a frequência cardíaca (FC) (Eletrocardiograma de 12 derivações, Apex 1000®, TEB, São Paulo, Brasil) e a pressão arterial (técnica auscultatória por meio de um esfignomamômetro).

As medidas de massa corporal (kg) e estatura (cm) foram utilizadas para a determinação do Índice de Massa Corporal (IMC, kg/m²). A estimativa do percentual de gordura corporal foi realizada a partir das medidas de sete dobras cutâneas e pela equação de Jackson e Pollock¹⁴.

Na segunda etapa, em um desenho crossover, os atletas foram distribuídos randomicamente em dois grupos, tendo os mesmos recebido a bebida teste (concentrado de suco de uva – BT) ou placebo (suco artificial de uva - PL). Os atletas realizaram dois treinos extenuantes, programados pelo técnico, ao ar livre, em duas ocasiões distintas, com intervalo de três semanas (*washout*), com a mesma intensidade e duração, e simulando as condições de competição. Os indivíduos foram orientados a seguir o estilo de vida habitual, principalmente quanto à dieta e, também suspenderam o consumo de suplementos antioxidantes por um período de 30 dias antes da realização dos testes (Figura 1).

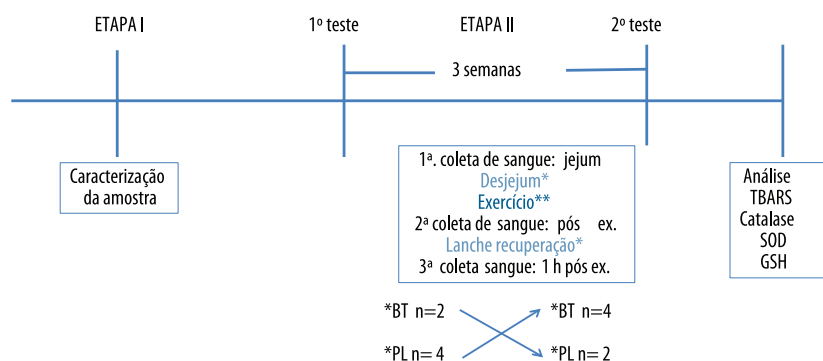


Figura 1. Protocolo experimental do estudo.

** 10 km ciclismo em estrada/ 6 km corrida em areia/ 1,5km natação no mar.

Em cada um dos testes foram realizados os seguintes procedimentos:

- Coleta de sangue em jejum.
- Oferta de desjejum 45 minutos antes do teste: A refeição foi composta por alimentos comumente consumidos pelos atletas (pão de forma, geleia de fruta, banana prata, aveia em flocos, biscoito água e sal, re-

- queijão, queijo minas, flocos de arroz caramelizados) assim como de BT ou PL. Os atletas foram orientados a consumir 1-1,5g carboidrato/kg.
- Oferta de carboidratos durante o treino: Foi oferecida água acrescida de maltodextrina a 8% ou alimentos-fonte de carboidratos, com orientação para que os atletas consumissem de 30-60g carboidrato/h de exercício.
 - Coleta de sangue imediatamente após o exercício.
 - Oferta de líquido e carboidrato na recuperação: Foi oferecida água *ad libitum* e 300 ml da BT ou PL e alimentos-fonte de carboidratos, com orientação para que os participantes consumissem pelo menos 1-1,5g carboidrato/kg.
 - Coleta de sangue 1 hora após o exercício.
 - Aplicação da escala de Borg et al.¹⁵ ao término do exercício para identificação da percepção subjetiva do esforço.

Embora para os períodos pré, durante e pós-treino tenham sido oferecidos lanches padronizados e com valores recomendados para exercício com duração superior a 60 minutos¹⁶, por questões éticas os atletas puderam ajustar sua ingestão aos seus hábitos, desde que limitassem suas escolhas aos alimentos disponibilizados no estudo.

Como bebida teste (BT) foi utilizado um concentrado de uva (G8000[®]; Golden Sucos, Farroupilha-RS, Brasil) obtido por nanofiltração (membrana com poros de 1 nanômetro) do suco de uva (*Vitis labrusca*). Neste processo, ocorre a retenção de fenólicos do suco, atingindo concentração cinco vezes maior do que aquela do suco original. O teor de fenólicos totais do concentrado de uva foi de 45,8 GAEG/kg (equivalentes de ácido gálico/kg) e propriedade antioxidante de 27,03g Vitamina C eq/kg (equivalentes de Vitamina C/kg)⁹.

Para cada dose da BT, foram utilizados 33g do concentrado de uva, contendo 1,5 g de polifenóis e água suficiente para totalizar um volume final de 300 ml. Os 66g totais de concentrado de uva ofertados correspondem ao equivalente de polifenóis encontrado em 1 litro de suco de uva integral. Tal concentrado já demonstrou exercer efeito antioxidante em estudo recente realizado com animais⁹. A bebida placebo (PL) foi oferecida na forma de suco artificial em pó, sabor uva, no mesmo volume, com o mesmo teor energético e as mesmas características sensoriais (cor, sabor e doçura). As bebidas foram oferecidas no jejum e imediatamente após o exercício físico.

Para a análise dos biomarcadores de estresse oxidativo, foram coletados 5ml de sangue periférico por punção venosa da veia antecubital, sendo este imediatamente transferido para tubos com anticoagulante heparina. As amostras foram mantidas em gelo até o momento da centrifugação para separação do plasma, o qual foi utilizado para a dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), os eritrócitos foram utilizados para a determinação das substâncias antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas. Todas as amostras processadas foram armazenadas a -80°C até a realização das dosagens. A mensuração dos níveis de TBARS, para a avaliação da peroxidação lipídica, foi baseada no método espectrofotométrico de Ohkawa et al.¹⁷, cujo principal produto analisado é o malondialdeído

(MDA; nmol/ml). Considerou-se como indicador de estresse oxidativo níveis superiores a 2,0 nmol/ml.

Para a análise dos biomarcadores antioxidantes, os tubos contendo sangue hemolisado foram descongelados em água corrente e novamente congelados, em seguida, em um recipiente contendo gelo seco e acetona. Este procedimento foi repetido três vezes para promover a lise da membrana plasmática dos eritrócitos. Os tubos foram, então, centrifugados e o sobrenadante foi transferido para tubos plásticos de 1,5ml (marca Eppendorf, Alemanha). Estas amostras foram utilizadas para a análise das atividades enzimáticas da catalase (CAT) e da superóxido dismutase (SOD). A determinação da atividade da CAT eritrocitária foi baseada no método espectrofotométrico¹⁸ e a leitura feita em comprimento de onda de 230nm, (aparelho Hitachi, Japão) a 37°C. Considerou-se como valor de referência de 16,5 a 26,5 U/mgHb¹⁹.

A atividade da SOD eritrocitária foi determinada pelo método espectrofotométrico²⁰, na presença de cianeto, em concentração adequada à inibição da atividade da citocromo- c oxidase: a leitura foi realizada em um comprimento de onda de 550nm, a 25°C. Foi considerado como valor de referência de 6,5 a 14,5U/mgHb¹⁹.

A determinação da concentração de glutatona total (GSH) eritrocitária (mM) foi baseada no método espectrofotométrico²¹. A dosagem de hemoglobina foi realizada para a normalização das atividades enzimáticas e da concentração de glutatona entre as amostras. A concentração foi expressa em mmol/gHb.

A análise descritiva dos resultados está apresentada como média e desvio padrão. Para a verificação do comportamento das variáveis, foi empregado o modelo de análise de variância com medidas repetidas. Utilizou-se o software estatístico “R” para os cálculos e considerou-se $p < 0,05$ como nível de significância.

RESULTADOS

As características da amostra encontram-se descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Características dos seis triatletas do sexo masculino

Variáveis	Média ± DP	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	43,8 ± 10,2	28	57
Tempo de prática (anos)	13,2 ± 6,3	3,5	20
Treino semanal (km)	270,8 ± 87,1	167,5	420
Treino diário (horas/dia)	3,1 ± 1,88	1	4,5
VO ₂ máx (ml/kg/min)	45 ± 5,1	36,6	49,5
FCmáx (bpm)	163 ± 19	125	192
WAmáx (W)	313,2 ± 56,9	208,5	380
% GC	13,6 ± 4,2	8,3	19,8
IMC (kg/m ²)	25,1 ± 2,6	22	30,1

DP: desvio-padrão; VO₂máx: consumo de oxigênio máximo; FCmáx: Frequência cardíaca máxima; WAmáx: Watts absoluto máximo; %GC: percentual de gordura corporal; IMC: Índice de Massa Corporal.

Em relação ao consumo habitual de substâncias com ação antioxidante (Tabela 2), a ingestão média foi de acordo com as recomendações, com exceção no que se refere ao consumo de vitamina E.

Tabela 2. Consumo alimentar habitual de substâncias antioxidantes obtidas a partir do recordatório de 24 horas

Variáveis	Média DP	Mínimo	Máximo	RDA	UL
Zinco (mg)	16,1 ± 7,3	9,2	30,21	11	40
Vitamina A (RE)	1381,7 ± 1115,5	455,5	3514,5	900	3000
Vitamina E (mg)	10,8 ± 8,6	2,9	26,0	15	1000
Vitamina C (mg)	220,3 ± 126,5	65,7	366	90	2000
Antocianidinas (mg)	44,7 ± 70,0	0,8	164,8	ND	ND
Flavanols (mg)	19,2 ± 29,7	3,0	79,7	ND	ND
Flavanonas (mg)	31,8 ± 71,5	0,0	177,5	ND	ND
Flavonas (mg)	0,6 ± 0,9	0,0	2,4	ND	ND
Flavonols (mg)	9,5 ± 5,0	4,3	17,0	ND	ND
α- Caroteno (µg)	85,2 ± 32,9	47,5	127,8	ND	ND
β- Caroteno (µg)	659,1 ± 404,7	365,1	1314,6	ND	ND
Licopeno (µg)	2,7 ± 2,9	0,4	7,5	ND	ND

*RDA: *Recommended Dietary Allowance*¹³; UL: *Tolerable Upper Intake Level*¹³; ND: não determinado.

As condições ambientais variaram entre os dois dias de coleta, sendo: temperatura ambiente de 26°C e 27°C, umidade relativa do ar de 88% e 65% e ventos de 0 e 8 km/h, respectivamente no primeiro e no segundo dia. A percepção do esforço foi de 16,3±1,0 no 1º dia e de 14,6±2,3 no 2º dia, de acordo com a escala de Borg et al.¹⁵.

A Tabela 3 mostra as quantidades consumidas de carboidrato durante o jejum, treino e recuperação. Podemos observar que o consumo de carboidratos foi aquém do recomendado durante o exercício físico.

Tabela 3. Consumo de carboidrato nos três momentos de coleta de acordo com o tipo de bebida.

Momento	Recomendação ¹⁸	Bebida teste Média ± DP	Placebo Média ± DP
Pré-exercício	1-1,5g/kg	1,5 ± 0,3	1,7 ± 0,5
Durante	30 a 60 g/h	26 ± 15	30 ± 18
	0,7g/kg/h	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,3
Pós-exercício	1-1,5g/kg	1,8 ± 0,5	1,3 ± 0,6

Os níveis médios de TBARS e de antioxidantes, nos três momentos de coleta estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Concentrações de TBARS, GSH e de enzimas antioxidantes de acordo com o tipo de bebida e momento de consumo.

	Bebida teste			Placebo		
	M0	M1	M2	M0	M1	M2
TBARS (nmol/ml)	1,61 ± 2,1	1,77 ± 1,3	2,06 ± 0,5	1,47 ± 1,0	2,51 ± 1,2	2,42 ± 1,2
CAT (U/mgHb)	34,6 ± 11,5	34,2 ± 6,9	32,4 ± 12,1	34,5 ± 8,2	24,6 ± 12,5	32,3 ± 8,6
SOD Total (U/mgHb)	15,4 ± 3,0* ^δ	19,4 ± 4,0*	20,5 ± 2,7 ^δ	18,1 ± 4* ^δ	20,4 ± 3,4*	20,6 ± 2,2 ^δ
GSH (µmol/gHb)	1,67 ± 0,8	1,83 ± 0,3	1,70 ± 0,5	1,31 ± 0,5	1,33 ± 0,5	1,67 ± 0,7

Média±desvio-padrão; M0: em jejum; M1: imediatamente após o exercício; M2:1 hora após o exercício. *p=0,027 entre M0 e M1, independente da bebida; ^δ=0,02 entre M0 e M2, independente da bebida.

Embora sem diferença estatística, os níveis de TBARS em ambos os grupos, entre a primeira coleta (M0) e pós-exercício (M1), foram maiores; entretanto, o aumento percentual médio (9,9%) no grupo que consumiu BT foi menor do que o do grupo que ingeriu PL (70,7%).

Considerando os níveis de TBARS, os quais caracterizam situação de estresse oxidativo ($>2,0$ nmol/mL), dois atletas iniciaram os protocolos (um com BT e outro com PL) com valores elevados (5,69 nmol/mL e 3,06 nmol/mL, respectivamente), sendo que houve normalização apenas com a ingestão de BT. Ainda dois atletas que consumiram BT apresentaram valores elevados de TBARS imediatamente após o exercício, ao passo que, três atletas também demonstraram aumento somente uma hora após. Por outro lado, quatro atletas que ingeriram PL apresentaram valores elevados desse importante biomarcador de estresse oxidativo, tanto imediatamente como uma hora após o final do treino.

No que se refere à atividade da CAT, os valores médios foram menores na 2ª coleta em relação à 1ª para os atletas que consumiram PL (28,6%), enquanto que, quando se consumiu BT, os valores se mantiveram próximos ao basal. Houve aumento significativo da atividade da SOD da 1ª para a 2ª ($p=0,027$) e 3ª coletas ($p=0,02$), em resposta ao exercício, independente da bebida consumida.

Em relação aos níveis de GSH total, houve aumento imediatamente após o exercício quando analisados tanto os triatletas que receberam PL (1,5% acima do basal) quanto os que ingeriram BT (9,6% acima do basal). No entanto, os valores desse importante biomarcador de estresse oxidativo retornaram aos seus níveis basais 1 hora após final do treino.

DISCUSSÃO

Embora a produção de radicais livres represente um processo de adaptação ao treino, quando a mesma torna-se excessiva pode gerar efeitos negativos^{1,22}. Este estudo traz como diferencial o fato de os atletas terem realizado o treino frente às condições ambientais habituais, tais como calor e umidade. Nós sugerimos que o modelo proposto para o estudo, no que se refere aos biomarcadores de estresse oxidativo, foi adequado, considerando, principalmente, os resultados de TBARS e de SOD²². No entanto, essas características exigem que os resultados obtidos sejam analisados com cautela, uma vez que houve pequena variação climática. Outro fator a ser considerado é o tamanho limitado da amostra.

Embora a faixa etária tenha sido ampla, a amostra foi composta por triatletas que competem em provas que demandam grande resistência, como o Ironman, a prova mais desafiadora de triatlão. Os valores de consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), bem como a carga média utilizada, indicam que os triatletas apresentaram, à época, nível amador. Quanto ao tipo de exercício físico realizado no protocolo do estudo, por meio da percepção do esforço subjetivo, foi considerado como cansativo pelos atletas. Quanto à composição corporal, o percentual de gordura dos triatletas avaliados foi

superior ao encontrado por outros autores^{10,23,24}, porém, semelhante aos valores encontrados por Nieman et al.⁴.

O consumo habitual de nutrientes antioxidantes foi adequado¹³, com exceção da vitamina E; o mesmo foi observado no estudo realizado por Nieman et al.⁴ O consumo de vitamina E, a e β -carotenos e licopeno foi inferior ao encontrado por Rousseau et al.²⁵ em atletas de esportes aeróbios, o que pode diminuir a ação protetora antioxidante dessas substâncias.

Um ponto importante a ser ressaltado é que os atletas ingeriram, inicialmente, a BT e o PL em condições distintas, o que sugere que os biomarcadores de estresse oxidativo investigados podem ter sido afetados, hipoteticamente, por outros fatores que não o exercício físico, por exemplo, a concentração endógena de antioxidantes, acúmulo de treinos, conteúdos de glicogênio muscular e hepático e, ainda, exposição a fatores ambientais¹, o que poderia explicar a grande variabilidade na resposta às bebidas.

Urso e Clarkson²⁶, em revisão sobre o tema, indicam achados de valores aumentados de MDA de repouso em atletas velocistas, maratonistas e nadadores adolescentes. Por outro lado, Knez et al.³ verificaram níveis de MDA em repouso inferiores aos de controles em triatletas de Ironman. Em nosso estudo, apenas dois atletas apresentaram valores elevados de TBARS em repouso e isso ocorreu somente em um dos dias de coleta, corroborando a ideia de que outros fatores, que não a prática de exercício físico, exerceram influência sobre os resultados. Embora não seja um achado comum na literatura^{3,26}, devido às características do protocolo de exercício proposto, o qual previa intensidade superior aos treinos habitualmente programados e os mesmos sendo realizados em uma época do ano caracterizada por elevado calor e umidade (fatores que aumentam o estresse oxidativo), esperávamos que o exercício físico aplicado provocasse o aumento dos níveis de TBARS nesses sujeitos. Sureda et al.²⁷, avaliaram os níveis de MDA em ciclistas profissionais em competição de longa duração e os resultados apontaram aumento de 69% nos níveis de MDA plasmático e 370% do eritrocitário. Kanter et al.²⁸ também observaram aumento de cerca de 70% nos níveis de TBARS em atletas de elite que participaram de uma corrida de 80km, sendo este achado semelhante ao observado no grupo que recebeu a PL no presente estudo. Diferente do observado por nós, Knez et al.³ observaram maior elevação percentual dos níveis de MDA em triatletas após um meio-Ironman (32%) ou Ironman (29,7%) quando suplementados com antioxidantes (sem suplementos: 13,6% e 12,9%, respectivamente). Os autores sugerem que a suplementação com vitamina E possa ter apresentado um efeito pró-oxidante, como também observado no estudo de Nieman et al.⁴.

De forma importante, os valores elevados ($>2,0$ nmol/mL) de TBARS, encontrados imediatamente após o exercício físico em quatro atletas do presente estudo que consumiram a PL, sugerem que a BT pode ter atenuado o aumento de TBARS. Morillaz- Ruiz et al.⁷ observaram aumento significativo da peroxidação lipídica (TBARS) em ciclistas treinados, após exercício agudo, tendo este sido menor quando os atletas consumiram bebi-

da, fornecendo 2,3g de polifenóis em comparação à bebida teste. Howatson et al.⁶ observaram diminuição na produção de TBARS em maratonistas, pós-competição, que consumiram suco de cerejas contendo cerca de 1,2g de polifenóis.

Os estudos sobre a resposta da CAT ao exercício físico mostram resultados conflitantes, principalmente, em relação à uma única sessão de exercício²². Em nosso estudo, a atividade da CAT se manteve estável no grupo que consumiu BT, com redução da concentração pós-exercício no grupo que consumiu PL. No caso de uma produção exacerbada de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), fruto do exercício físico, em quantidade que ultrapasse a capacidade de ação da glutathione peroxidase, enzima com maior afinidade ao H_2O_2 , poder-se-ia esperar que houvesse um aumento na produção de CAT²⁷. No entanto, Urso e Clarkson²⁶, em revisão sobre o tema, relatam resultados de estudos, dos quais em apenas um deles foi observado o aumento das concentrações de CAT. Em outros estudos não houve alteração ou ainda, houve redução da CAT^{3,26}. Knez et al.³, que também observaram redução na concentração de CAT após o exercício de ultraendurance agudo, sugerem que tal efeito possa ser decorrente de uma reação alostérica inibitória da enzima, associada à sua inativação pelo excesso de estresse oxidativo. Assim, embora a interpretação dos resultados encontrados para a CAT deva ser feita com cautela, pode-se inferir que a BT tenha apresentado um efeito modulador sobre essa reação, em contraste ao observado quando os atletas consumiram PL.

Os níveis basais de atividade de SOD no presente estudo ($15,4 \pm 3,0$ e $18,1 \pm 4,0$ U/mgHb) foram inferiores aos relatados por Gonçalves et al.¹⁰, que avaliaram triatletas que ingeriram, por 20 dias, suco de uva orgânico (300 ml/dia) em seu cotidiano, durante o período de treinamento ($27,8 \pm 6,3$ U/mgHb), e próximos ao encontrado por Knez et al.³, que também avaliaram triatletas pré e pós provas de meio Ironman e Ironman.

Em relação ao aumento significativo da atividade da SOD em resposta ao exercício, independente da bebida, o resultado está de acordo com a literatura, a qual indica grande variação no aumento (20 a 112%) em resposta ao exercício^{22,26}, embora este achado não seja unânime³. Quanto ao efeito das substâncias antioxidantes da uva, diferente do encontrado por nós, Gonçalves et al.¹⁰ identificaram, de forma significativa, menor atividade da SOD em atletas que consumiram 300 ml (1,59 g de polifenóis) de suco de uva orgânico por 20 dias. Ressalta-se que uma das isoformas da SOD é zinco-dependente e uma alimentação rica nesse mineral é necessária para que esta enzima atue perfeitamente. A média de ingestão de zinco em nosso estudo estava de acordo com valores recomendados¹⁴.

Quanto à resposta dos níveis de GSH ao exercício, alguns estudos observaram valores menores na razão glutathione reduzida (GSH)/glutathione oxidada (GSSG) e, ainda, retorno dos valores de GSH e GSSG às concentrações basais após uma hora do término do exercício²⁹. O aumento dos níveis de GSH total observado no presente estudo, em ambas as condições, imediatamente após o exercício, corrobora os achados de Ji et al.³⁰, os quais

observaram aumento da GSH total (GSH+GSSG) após o exercício físico; além disso, esses mesmos autores verificaram que o carboidrato (oferecido em solução contendo polímeros de glicose e de frutose, na razão de 1,8:1, à 7,5% e fornecendo 0,27g de carboidrato/kg de peso) preveniu esse aumento. O menor aumento no grupo BT pode indicar menor oxidação de GSH à GSSG ou, ainda, ressíntese mais eficiente por meio da enzima glutatona redutase. O fato do consumo de carboidratos durante o exercício ter sido baixo nas duas coletas pode, hipoteticamente, ter afetado esses resultados.

Os aumentos dos níveis de GSH entre a condição de jejum e após 1 hora de exercício também sugerem que a BT pode ter diminuído a oxidação de GSH, uma vez observamos aumento de 1,8% nessa condição BT e de 27,5% na condição PL.

Embora haja um aumento crescente no número de publicações que abordam o tema estresse oxidativo, seus biomarcadores e exercício físico, ainda são poucos aqueles que investigaram alimentos e suas substâncias bioativas. Além disso, diferenças na seleção dos esportes, nível de atividade física (ex: fisicamente ativo vs. atleta), protocolos de exercício (ex: força vs. *endurance* vs. *sprint*; diferentes intensidades, volumes e duração), biomarcadores e seus métodos de análise, produzem resultados conflitantes que dificultam a discussão de novos achados.

É necessário ressaltar que os biomarcadores aqui avaliados se comportaram de maneira diferente entre os triatletas. Dessa forma, sugerimos fortemente que estudos com maior número de participantes seja realizado e que, para além disso, estes estudos tenham um melhor controle tanto da intensidade do exercício como do consumo de carboidratos pelos sujeitos a fim de minimizar a ocorrência de valores *outliers*.

CONCLUSÕES

Os resultados encontrados para TBARS, CAT e GSH sugerem que o consumo do concentrado de uva contendo 45,8g/kg de polifenóis apresenta potencial ação na modulação positiva do estresse oxidativo induzido pelo exercício.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo financiamento do trabalho científico.

Odair Aguiar Junior, Cinthia Castro do Nascimento, Priscila de Medeiros, Ricardo Antoniazzi Peliccioni, Mariana Agnes da S. Alves, Lisandro Lungato, Fábio Montesano e Karla Helene M. Lima.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cruzat VF, Rogero MM, Borges MC, Tirapegui J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Rev Bras Med Esporte* 2007;15(5): 336-42.
2. Ferreira F, Ferreira R, Duarte JR. Stress oxidativo e dano oxidativo muscular esquelético: influência do exercício agudo inabitual e do treino físico. *Rev Port Ciênc Desporto* 2007;7(2):257-75.
3. Knez WL, Jenkins DG, Combes JS. Oxidative stress in half and full Ironmen triathletes. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39(2):283-88.

4. Nieman DC, Henson DA, Mcanulty SR, Mcanulty LS, Morrow JD, Ahmed A, et al. Vitamin E and immunity after the Kona Triathlon World Championship. *Med Sci Sports Exerc.* 2004;36(8):1328-35.
5. Lafay S, Jan C, Nardon K, Lemaire B, Ibarra A, Roller M, et al. Grape extract improves antioxidant status and physical performance in elite male athletes. *J Sport Sci Med* 2009;8:468-80.
6. Howatson G, Mchugh MP, Hill JA, Brouner J, Jewell AP, Van Someren KA, et al. Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. *Scand J Med Sports* 2010;20(6):843-52.
7. Morillaz-Ruiz JM, Garcia JAV, López FJ, Vidal-Guevara ML, Zafrilla P. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clin Nutr* 2006;25:444-53.
8. Nassiri-Asl M, Housseinzadeh H. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. *Phytother* 2009;23:1119-204.
9. Aguiar Jr O, Gollücke APB, Moraes BB, Pasquini G, Catharino RR, Riccio MF, et al. Grape juice concentrate prevents oxidative DNA damage in peripheral blood cells of rats subjected to a high-cholesterol diet. *Br J Nutr* 2011;105:694-702.
10. Gonçalves MC, Bezerra FF, Eleutherio ECA, Bouskela E, Koury J. Organic grape juice intake improves functional capillary density and postocclusive reactive hyperemia in triathletes. *Clinics* 2011;66(9):1537-41.
11. Holden JM, Eldridge AL, Beecher IM, Bhagwat SA, Davis CS, Douglas LW, et al. Carotenoid Content of U.S. Foods: An update of the Database. *J Food Comp Anal* 1999;12:169-96.
12. Bhagwat S, Haytowitz DB, Holden JM. USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods, Release 3.0. Beltsville: US Department of Agriculture; 2011.
13. Otten JJ, Hellwig JP, Meyers LD (editores). Dietary references intakes: the essential guide to nutrient requirements. Washington: National Academy Press; 2006.
14. Jackson AS, Pollock ML. Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr* 1978;40:497-504.
15. Borg G, Hassmen P, Lagerstrom M. Perceived exertion in relation to heart rate and blood lactate during arm and leg exercise. *Eur J of Appl Phys* 1987;65:679-85.
16. Burke LM, Hawley JA, Wong SHS, Jeukendrup AE. Carbohydrate for training and competition. *J Sports Sci* 2011;29(sup1):S17-S27.
17. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thio-barbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95(2):351-8.
18. Adamo AM, Liesuy LF, Pasquini JM, Boveris A. Brain chemiluminescence and oxidative stress in hyperthyroid rats. *Biochem J.* 1989;263:273-7.
19. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova* 2007;30(5):1323-38.
20. Mccord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244(22):6049-55.
21. Tietze, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 1969;27:502-22.
22. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proceed Nutr Soc* 1999;58(4):1025-33.
23. González-Haro C, Galilea PA, González-de-Suso JM, Drobnic F, Escanero JF. Maximal lipidic power in high competitive level triathletes and cyclists. *Br J Sports Med* 2007;41(1):3-28.
24. Knechtle B, Knechtle P, Andonie JL, Kohler G. Influence of anthropometry on race performance in extreme endurance triathletes: World Challenge Deca Iron Triathlon 2006. *Br J Sports Med* 2007;41:644-48.

25. Rousseau A-S, Hininger I, Palazzetti S, Faure H, Roussel A-M, Margaritis I. Antioxidant vitamin status in high exposure to oxidative stress in competitive athletes. *Br J Nutr* 2004;92:461-8.
26. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003;189(1-2):41-54.
27. Sureda A, Tauler P, Aguiló A, Cases N, Fuentespina E, Dórdova A, et al. Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defences during exhaustive exercise. *Free Radic Res* 2005;39(12):1317-24.
28. Kanter MM, Lesmes GR, Kaminsky LA, Ham-Seager JL, Nequin ND. Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. *Eur J Appl Physiol* 1988;57:60-3.
29. Dufaux B, Heine O, Kothe A, Prinz U, Rost R. Blood glutathione status following distance running. *Int J of Sports Med* 1997;18(2):89-93.
30. Ji LL, Katz A, Fu R, Griffiths M, Spencer M. Blood glutathione status during exercise: effect of carbohydrate supplementation. *J Appl Physiol* 1993;74(2):788-92.

Endereço para correspondência

Jean Carlos Silvestre
Av. Conselheiro Nébias, 347 – apto 21
CEP 11015-003 – Santos, SP, Brasil
E-mail: j.csilvestre@yahoo.com.br