

CÂNDICE LAÍS KNÖNER COPETTI

**EFEITO DO CONSUMO AGUDO DO SUCO DE JUÇARA
(*Euterpe edulis Martius*) SOBRE A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
E BIOMARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO ANTES E
APÓS UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO INTERVALADO DE
ALTA INTENSIDADE: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO
E *CROSS-OVER***

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof^a Dr^a Patricia Faria Di Pietro.

FLORIANÓPOLIS
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Copetti, Cândice Lais Knöner
EFEITO DO CONSUMO AGUDO DO SUCO DE JUÇARA
(Euterpe edulis Martius) SOBRE A ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E BIOMARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO
ANTES E APÓS UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO INTERVALADO DE
ALTA INTENSIDADE : UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO E
CROSS-OVER / Cândice Lais Knöner Copetti ;
orientadora, Patricia Faria Di Pietro, 2018.
161 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde,
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Florianópolis,
2018.

Inclui referências.

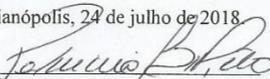
1. Nutrição. 2. Fruto juçara (Euterpe edulis). 3.
Antioxidantes. 4. Estresse Oxidativo. 5.
Treinamento Intervalado de Alta Intensidade. I. Di
Pietro, Patricia Faria . II. Universidade Federal
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Nutrição. III. Título.

CÂNDICE LAÍS KNÖNER COPETTI

**EFEITO DO CONSUMO AGUDO DO SUCO DE JUÇARA
(*Euterpe edulis Martius*) SOBRE A ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E BIOMARCADORES DO ESTRESSE
OXIDATIVO ANTES E APÓS UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO
INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE: UM ENSAIO
CLÍNICO RANDOMIZADO E *CROSS-OVER***

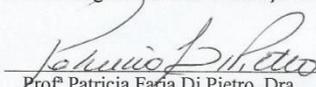
Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Nutrição, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 24 de julho de 2018.



Prof.ª Patricia Faria Di Pietro, Dra.

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição



Prof.ª Patricia Faria Di Pietro, Dra.

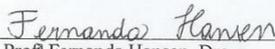
Orientadora e Presidente da banca
Universidade Federal de Santa Catarina

Banca Examinadora:



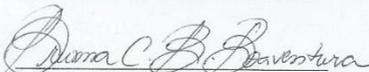
Prof.ª Gabriela Fischer, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.ª Fernanda Hansen, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.ª Brunna Cristina Bremér Boaventura, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina

Ao meu marido Bruno, aos meus pais
Wilson e Salete e minha irmã Kaline
por todo amor, apoio e carinho durante
esta caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda a força nos momentos mais difíceis.

Ao meu marido Bruno por todo amor, apoio e compreensão durante este período.

Aos meus pais Wilson e Salete e minha irmã Kaline por todo carinho.

À professora Dr^a Patricia Faria Di Pietro, minha estimada orientadora, pelo acolhimento, confiança e atenção sempre que precisei.

Ao professor Dr. Antônio Renato P. Moro, em particular ao Laboratório de Biomecânica, pelo empréstimo das instalações (Departamento de Educação Física da UFSC) para a realização da pesquisa.

Ao professor Dr. Fernando Diefenthaler e ao Lucas Orssato, parceiros da Educação Física pelo especial apoio e colaboração.

Ao Laboratório de Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose da UFSC, em especial ao professor Dr. Edson Luis da Silva por disponibilizar o laboratório para as análises dos marcadores bioquímicos e por todo auxílio ao longo do trabalho.

Ao Laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciências dos Alimentos da UFSC, particularmente, à professora Dr^a Roseane Fett, à doutoranda Mayara Schulz e ao Luciano Gonzaga pela contribuição nas análises de caracterização das amostras do suco de juçara.

Ao Laboratório de Antropometria, principalmente, à professora Dr^a Yara Franco Moreno por viabilizar o uso do laboratório para a realização da antropometria e DXA dos voluntários do estudo.

Ao Laboratório Metabólico e Dietético, em especial à professora Dr^a Júlia Dubois Moreira por disponibilizar o laboratório para o porcionamento e armazenamento dos sucos de juçara.

Às professoras Dr^a Francilene Kunradi Vieira e Dr^a Patrícia de Fragas Hinnig pela contribuição na realização do trabalho.

Às pesquisadoras de pesquisa professora Dr^a Débora Kurrle Rieger Venske e mestrandas Bruna Cunha Mendes pela especial colaboração.

Aos membros do Grupo de Estudos em Nutrição e Estresse Oxidativo (GENEO), em especial à Sheyla e Alyne por todo auxílio e encorajamento.

À grande amiga Taís que, com muita paciência e carinho, me ensinou todas as técnicas laboratoriais e sempre me apoiou. Eterna gratidão!

À querida Jéssica, bolsista de iniciação científica que me ajudou em diversas etapas da pesquisa e, principalmente, nas incontáveis horas de laboratório. Muito obrigada!

À técnica de enfermagem Larissa pelo auxílio nas coletas sanguíneas dos voluntários do estudo.

Aos acadêmicos de farmácia Robson, Bruna, Guilherme e Larissa pelo auxílio na alíquotagem das amostras sanguíneas nos dias de coleta e à Marcela pelo auxílio nas análises laboratoriais.

Aos voluntários que participaram do estudo pelo comprometimento em todas as etapas da pesquisa.

À empresa Duas Rodas pela doação das polpas de juçara utilizadas no estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa de estudos. À instituição UFSC e ao programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN) por fornecerem subsídios para tornar exequível a realização deste estudo.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”
(Simone de Beauvoir)

RESUMO

Nos últimos anos, a suplementação de antioxidantes tem recebido notável atenção pela sua influência na recuperação após o exercício, reduzindo o estresse oxidativo. Estudos sugerem que o consumo de alimentos ricos em antocianinas, como o fruto juçara (*Euterpe edulis* Martius) pode oferecer proteção antioxidante no exercício, independentemente da duração da intervenção. Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito do consumo agudo do suco de juçara sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade. Em um delineamento *cross-over* e randomizado, 15 homens fisicamente ativos foram designados para consumir, 1h antes do exercício, 250 mL de suco de juçara ou água (controle). Amostras sanguíneas foram obtidas 1h antes do exercício (antes da ingestão do suco de juçara ou controle), imediatamente após o exercício e 1h após o exercício. Os parâmetros avaliados foram: fenóis totais, ácido úrico, glutathione reduzida (GSH), glutathione oxidada (GSSG), relação GSH:GSSG, capacidade antioxidante total (TAC, do inglês *Total Antioxidant Capacity*), estado oxidante total (TOS, do inglês *Total Oxidant Status*), índice de estresse oxidativo (IEO), proteínas carboniladas (PC) e as enzimas: glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Análises de variância para medidas repetidas de duas vias denotaram aumento significativo do tempo nos desfechos: fenóis totais ($p < 0,001$), ácido úrico ($p < 0,001$), TAC ($p < 0,001$) e GPx ($p = 0,03$), bem como diminuição ao longo do tempo de TOS ($p = 0,01$) e IEO ($p < 0,001$) independente do tratamento (suco de juçara ou controle). Considerando que não foi observado efeito do tratamento, realizou-se a análise das mudanças relativas (%). A partir das mudanças relativas médias, foi observado que o suco de juçara diminuiu (-1,2%) o parâmetro IEO imediatamente após o exercício ($p = 0,03$) e aumentou os parâmetros GSH (37%; $p = 0,03$) e a relação GSH:GSSG (8%; $p = 0,03$) 1h após o exercício comparado ao grupo controle. Ainda, observou-se que a ingestão do suco de juçara aumentou 3% imediatamente após o exercício e 9% 1h após o exercício as concentrações de fenóis totais ($p = 0,02$) e 2% imediatamente após o exercício e 55% 1h após o exercício as concentrações de ácido úrico ($p < 0,001$). Em conclusão, o suco de juçara diminuiu o parâmetro IEO imediatamente após o exercício e aumentou os parâmetros GSH e a relação GSH:GSSG 1h após o exercício em relação ao grupo controle, indicando que o consumo do suco de juçara pode contribuir para as respostas antioxidantes e, possivelmente, na recuperação do exercício. No

entanto, indivíduos fisicamente ativos que desejam consumir o suco de juçara com a finalidade de recuperação durante a intensificação dos períodos de treinamento, precisam equilibrar o objetivo de promover a recuperação das sessões de treinamento com a atenuação da sinalização redox, necessária às adaptações fisiológicas induzidas pelo exercício. Futuras pesquisas devem examinar o uso do suco de juçara por um maior período de intervenção, em diferentes doses e em outras condições de exercício, a fim de investigar possíveis alterações nestes e em outros parâmetros bioquímicos, fisiológicos, bem como avaliar a recuperação e desempenho do exercício.

Palavras-chaves: fruto juçara, *Euterpe edulis*, antocianinas, antioxidantes, exercício, estresse oxidativo.

ABSTRACT

In the past few years, antioxidant supplementation has been the focus of attention in recovery exercise, thus leading to a reduction in oxidative stress. Studies suggest that the consumption of foods rich in anthocyanins, such as juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius), may provide antioxidant protection during exercise, regardless the duration of intervention. The purpose of this study was to evaluate the acute consumption of juçara juice in antioxidant activity and oxidative stress biomarkers before and after a high-intensity interval training session. In a randomized, cross-over design, fifteen physically active men were assigned to drink 250 mL of juçara juice or water (control) 1 h before exercise. Blood samples were obtained 1 h prior to exercise (before the juçara juice or water intake), immediately post exercise, and 1 h post exercise. The parameters evaluated were: total phenols, uric acid, reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), GSH:GSSG ratio, total antioxidant capacity (TAC), total oxidant status (TOS), oxidative stress index (OSI), protein carbonyls (PC) and enzymes: glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT). Analyses of variance for repeated measures (two-way) denoted a significant increase of time on outcomes: total phenols ($p < 0,001$), uric acid ($p < 0,001$), TAC ($p < 0,001$) and GPx ($p = 0,03$), as well as a decrease over time of TOS ($p = 0,01$) and OSI ($p < 0,001$), regardless of treatment (juçara juice or control). Considering that no treatment effect was observed, the relative changes (%) were analyzed. From the relative average changes, it was possible to observe a decrease (-1,2%) in OSI parameter immediately post exercise ($p = 0,03$) and an increase in the GSH (37%; $p = 0,03$) and GSH:GSSG ratio (8%; $p = 0,03$) parameters 1 h post exercise of juçara juice intake in relation to the control group. Moreover, an increase in total phenols of 3% immediately post exercise and 9% 1 h post exercise ($p = 0,02$) and 2% immediately post exercise and 55% 1 h post exercise ($p < 0,001$) in uric acid of juçara juice intake was observed. In conclusion, the juçara juice decreased the IEO parameter immediately post exercise and increased the GSH and GSH:GSSG ratio parameters 1 h post exercise in relation to the control group, indicating that the juçara juice intake may contribute to the antioxidant responses and, possibly, to the recovery of the exercise. However, physically active individuals who wish to consume juçara juice for the purpose of recovery during intensifying training periods, need to balance the goal of promoting the recovery of training sessions with the attenuation of exercise-induced redox signaling, required for physiological adaptations to exercise. Future researches should assess the

consumption of juçara juice for a longer period of intervention, in different doses and in other conditions of exercise in order to investigate changes in them. They should also make use of other biochemical and physiological parameters, as well as perform an evaluation on exercise recovery and performance.

Keywords: juçara fruit, *Euterpe edulis*, anthocyanins, antioxidants, exercise, oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Cachos da Palmeira Juçara.....	24
Figura 2 – Esquema ilustrativo das reações catalisadas pela Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutaciona Peroxidase (GPx). Ilustração da autora.....	31
Figura 3 - Estrutura química das antocianinas.....	37

CAPÍTULO 3

Figura 4 - Desenho do estudo.....	46
Figura 5 - Representação esquemática do protocolo de exercício.....	51

CAPÍTULO 4

Figura 1 - Desenho do estudo.....	67
Figura 2 - Representação esquemática do protocolo de exercício.....	73
Figura 3 - Mudanças relativas dos marcadores: Fenóis Totais (A), Ácido Úrico (B), GSH (C), GSSG (D) e GSH:GSSG (E) 1h antes do exercício, imediatamente após o exercício e 1h após exercício antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle. GSH: Glutaciona Reduzida; GSSG: Glutaciona Oxidada (n = 15).....	83
Figura 4 - Mudanças relativas dos marcadores: TAC (A), TOS (B), IEO (C) e PC (D) 1h antes do exercício, imediatamente após o exercício e 1h após exercício antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle. TAC do inglês: <i>Total Antioxidant Capacity</i> , capacidade antioxidante total; TOS do inglês: <i>Total Oxidant Status</i> , estado oxidante total; IEO: Índice de Estresse Oxidativo; PC: Proteínas Carboniladas (n = 15).....	84
Figura 5 - Mudanças relativas das enzimas antioxidantes: GPx (A), SOD (B) e CAT (C) 1h antes do exercício, imediatamente após o exercício e 1h após exercício antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle. GPx: Glutaciona Peroxidase; SOD: Superóxido Dismutase; CAT: Catalase (n = 15).....	86

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 2

Quadro 1 - Estado da arte referente a estudos que avaliaram o efeito do consumo de frutos ricos em antocianinas sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo gerados pelo exercício..... 39

CAPÍTULO 3

Quadro 2 - Motivos das perdas dos participantes durante o estudo.....48

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Composição nutricional da polpa do fruto juçara (*Euterpe edulis* Martius).....26

CAPÍTULO 3

Tabela 2 - Variáveis dependentes marcadoras da atividade antioxidante e estresse oxidativo.....50

CAPÍTULO 4

Tabela 1 - Características dos participantes do estudo (n = 15).....66

Tabela 2 - Composição e propriedades antioxidantes do suco de juçara.....71

Tabela 3 - Concentração dos parâmetros bioquímicos 1h antes do exercício (0), imediatamente após o exercício (1) e 1h após o exercício (2) antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle.....80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABTS – 2,2'-azinobis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic) diammonium salt
- ACN – Antocianinas
- ADP – Adenosina difosfato
- ALT – Alanina aminotransferase
- AMP – Adenosina monofosfato
- AMPK – Proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (*Adenosine Monophosphate-actived Protein Kinase*)
- AMT – Antocianinas monoméricas totais
- AOAC – Associação de Químicas Analíticas Oficiais (*Association of Official Analytical Chemicals*)
- AST – Aspartato aminotransferase
- ATP – Adenosina trifosfato
- BSA – Albumina sérica bovina (*Bovine serum albumin*)
- Ca – Cálcio
- CAT – Catalase
- CATd – Capacidade Antioxidante Total da Dieta
- CT – Colesterol Total
- DCM – Diclorometano
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- DNPH – 2,4 Dinitrofenilhidrazina
- DP – Desvio padrão
- DPPH - 2,2-Difenil-1-picrildrazil
- DTNB – Ácido 3-ditionitrobenzólico
- DXA – Densitometria computadorizada por absorciometria radiológica de dupla energia
- EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético
- EPM – Erro padrão médio
- EREs – Espécies Reativas de Enxofre
- ERNs – Espécies Reativas de Nitrogênio
- EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
- Fe – Ferro
- FRAP – Poder Antioxidante Redutor Férrico (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)
- GC – Grupo Controle
- GJ – Grupo Juçara
- GPx – Glutaciona peroxidase
- GR – Glutaciona redutase
- GSH – Glutaciona reduzida

GSSG – Glutathiona oxidada
HDL – Lipoproteína de alta densidade (*High Density Lipoprotein*)
HIIT – Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (*High-Intensity Interval Training*)
 HO_2^{\cdot} – Radical hidroperoxil
HClO – Ácido hipocloroso
 H_2O – Água
 H_2O_2 – Peróxido de hidrogênio
IEO – Índice de Estresse Oxidativo
IMC – Índice de Massa Corporal
IPAQ – Questionário Internacional de Atividade Física (*International Physical Activity Questionnaire*)
K – Potássio
KCN – Cianeto de potássio
LDL – Lipoproteína de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein*)
Mg – Magnésio
 MgSO_4 – Sulfato de Magnésio
Mn – Manganês
Na – Sódio
NADPH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NEM – N-Ethylmaleimide
 N_3Na – Azida sódica
 O_2 – Oxigênio
 $\text{O}_2^{\cdot-}$ – Ânion superóxido
 $^1\text{O}_2$ – Oxigênio *singlet*
 $^{\cdot}\text{OH}$ – Radical hidroxil
 ONOO^- – Peróxido nitrito
PPAR – Receptor ativado por proliferador de peroxissoma (*Peroxisome proliferator-activated receptor*)
PC – Proteínas Carboniladas
PPGN – Programa de Pós-Graduação em Nutrição
PPO – Potência pico obtida
RA – Registros Alimentares
SAE – Sistema de defesa antioxidante enzimático
SANE – Sistema de defesa antioxidante não-enzimático
SEAI – Série de esforço de alta intensidade
SH – Sulfidrilas
SOD – Superóxido dismutase
SOD-Cu/Zn – Superóxido dismutase dependente de cobre e zinco
SOD-Mn – Superóxido dismutase dependente de manganês como co-fator
TAC – Capacidade Antioxidante Total (*Total Antioxidant Capacity*)

TAS – Estado Antioxidante Total (*Total Antioxidant Status*)
TBARS: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*)
TCA – Ácido tricloroacético (*Trichloroacetic acid*)
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG – Triglicerídeos
TOS – Estado Oxidante Total (*Total Oxidant Status*)
TPTZ – 2,4,6-tripiridil-s-triazina
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina
UV – Ultravioleta
VO₂ – Consumo de oxigênio
VO_{2 max} – Consumo máximo de oxigênio
W – *Watts*
WST-1 – Tetrazólium-1 Solúvel em Água (*Water Soluble Tetrazólium-1*)
Zn – Zinco

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO.....	19
1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA.....	19
1.2 OBJETIVOS.....	21
1.2.1 Objetivo Geral.....	21
1.2.2 Objetivos Específicos.....	22
CAPÍTULO 2 - REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
2.1 FRUTO JUÇARA (<i>Euterpe edulis</i> Martius).....	23
2.1.1 Composição química e nutricional do fruto juçara (<i>Euterpe edulis</i> Martius).....	25
2.2 RADICAIS LIVRES, ANTIOXIDANTES E ESTRESSE OXIDATIVO.....	28
2.2.1 Radicais Livres.....	28
2.2.2 Antioxidantes.....	29
2.2.3 Estresse Oxidativo.....	32
2.3 TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE (HIIT, do inglês <i>High-Intensity Interval Training</i>).....	32
2.4 EXERCÍCIO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO.....	34
2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS FENÓLICOS, INCLUINDO AS ANTOCIANINAS E SEUS EFEITOS NO ESTRESSE OXIDATIVO GERADO PELO EXERCÍCIO.....	36
CAPÍTULO 3 - MÉTODOS.....	41
3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS AMOSTRAS DO SUCO DE JUÇARA.....	41
3.1.1 Reagentes.....	41
3.1.2 Caracterização Química.....	41
3.1.3 Procedimentos de Extração.....	42
3.1.4 Determinação de Fenólicos Totais.....	42
3.1.5 Determinação de Antocianinas Monoméricas Totais.....	42
3.1.6 Avaliação da Capacidade Antioxidante.....	43
3.1.6.1 Avaliação da capacidade antioxidante pelo método de sequestro de radicais DPPH.....	43
3.1.6.2 Avaliação potencial redutor do ferro (FRAP).....	44
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL/ ENSAIO CLÍNICO.....	44
3.3 LOCAL DE ESTUDO E POPULAÇÃO ESTUDADA.....	47
3.4 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA E PROCESSO DE AMOSTRAGEM.....	47
3.4.1 Monitoramento do estado de saúde dos participantes.....	48
3.5 MODELO DE ANÁLISE.....	49

3.6 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS.....	49
3.6.1 Determinação do Nível de Atividade Física.....	49
3.6.2 Protocolo de Exercício.....	50
3.6.2.1 Teste incremental máximo.....	50
3.6.2.2 Sessão de exercício intervalado de alta intensidade.....	51
3.6.3 Análises Bioquímicas.....	52
3.6.3.1 Coleta e preparo das amostras sanguíneas.....	52
3.6.3.2 Fenóis totais.....	52
3.6.3.3 Ácido úrico.....	53
3.6.3.4 Glutaciona reduzida (GSH).....	53
3.6.3.5 Glutaciona oxidada (GSSG).....	53
3.6.3.6 Capacidade Antioxidante Total (TAC do inglês <i>Total Antioxidant Capacity</i>).....	54
3.6.3.7 Estado Oxidante Total (TOS do inglês <i>Total Oxidant Status</i>).....	55
3.6.3.8 Índice de Estresse Oxidativo (IEO).....	55
3.6.3.9 Proteínas Carboniladas (PC).....	55
3.6.3.10 Glutaciona peroxidase (GPx).....	56
3.6.3.11 Superóxido dismutase (SOD).....	56
3.6.3.12 Catalase (CAT).....	56
3.6.3.13 Hemoglobina.....	57
3.6.4 Avaliação do Estado Nutricional e Composição Corporal.....	57
3.6.5 Avaliação da Capacidade Antioxidante Total da Dieta (CATd).....	57
3.7 TRATAMENTO E ANÁLISE DE DADOS.....	58
CAPÍTULO 4 – ARTIGO ORIGINAL.....	60
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
REFERÊNCIAS.....	105
APÊNDICES.....	135
ANEXOS.....	148

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA

A palmeira *Euterpe edulis* Martius, também conhecida como palmitreiro juçara, içara ou ripa é frequentemente encontrada na Mata Atlântica, desde o sul da Bahia até o norte do Rio Grande do Sul. Apresenta alto valor comercial e apesar da exploração extrativista desordenada, contínua e sem controle ter acarretado risco de extinção da espécie, ainda representa uma opção de renda para muitas famílias de agricultores de comunidades tradicionais. A produção do fruto juçara é uma maneira de agregar rendimento econômico e proteção ambiental (ROGEZ, 2000; LORENZI; MELLO FILHO, 2001; SANTOS et al., 2003; COSTA et al., 2008). Devido à similaridade na composição química com os frutos de açaí, principalmente no perfil lipídico e pela presença de antocianinas, os frutos juçara vêm sendo estudados nos últimos anos. Estes estão sendo utilizados para produção de uma bebida a base de sua polpa (MAC FADDEN, 2005; SCHULTZ, 2008; SCHIRMANN, 2009; BORGES et al., 2011).

O fruto juçara é um alimento altamente nutritivo que pode proporcionar benefícios à saúde, em parte, devido à sua elevada atividade antioxidante, conferida principalmente pela presença de antocianinas. As antocianinas são pigmentos encontrados em vegetais que apresentam cores que variam do vermelho intenso ao violeta e azul - coloração encontrada no fruto juçara (MARKAKIS, 1982). Diversos estudos sobre os efeitos do consumo de sucos, polpas ou frutos ricos em antocianinas, avaliados por meio de intervenções agudas ou prolongadas, têm mostrado resultados positivos, como, por exemplo, o aumento da atividade antioxidante (JENSEN et al., 2008; MERTENS-TALCOTT et al., 2008; CARDOSO et al., 2015).

Em condições fisiológicas, o organismo humano conta com um integrado sistema de defesa antioxidante, que contém componentes endógenos e exógenos. O sistema antioxidante endógeno inclui enzimas, como a glutatona peroxidase (GPx), a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT); além de antioxidantes não enzimáticos, como a glutatona reduzida (GSH) e o ácido úrico. O sistema antioxidante exógeno engloba diferentes constituintes dietéticos, incluindo vitaminas, minerais e compostos fenólicos (SIES, 1993; HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). O sistema de defesa antioxidante é responsável pela proteção contra os

efeitos deletérios do estresse oxidativo (SIES, 1993; 1997; JI, 1999; HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

O estresse oxidativo se caracteriza por um desequilíbrio entre a produção e a remoção de espécies reativas, preponderando os pró-oxidantes sobre os antioxidantes. Este processo pode conduzir à oxidação de biomoléculas, tais como lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (SIES; CADENAS, 1985; SIES, 1993). Atualmente, considera-se que o estresse oxidativo pode também envolver a ruptura de circuitos redox, que normalmente atuam na sinalização celular e regulação fisiológica (JONES, 2006; 2008; STAHL; SIES, 2012).

O aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) durante o exercício pode resultar em estresse oxidativo, porém a ocorrência deste depende de diversos fatores, dentre os quais, o tipo, a intensidade e duração do exercício (SASTRE et al., 1992; ALESSIO et al., 2000; PINHO et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2007; POWERS; NELSON; HUDSON, 2011). Durante o exercício, o consumo de oxigênio (VO_2) para produção aeróbica de adenosina trifosfato (ATP) pode aumentar de 10 a 20 vezes em relação aos níveis de repouso, causando um aumento concomitante na produção de EROs (FINAUD et al., 2006). Especificamente, durante o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês *high-intensity interval training*) o incremento no metabolismo energético e o consequente aumento na produção de EROs, bem como na exigência do sistema de defesa antioxidante, podem favorecer o estresse oxidativo (POWERS; JACKSON, 2008; POWERS; NELSON; HUDSON, 2011). Contudo, embora o HIIT esteja se tornando um método de treinamento popular, há informações conflitantes quanto à ocorrência de estresse oxidativo após uma sessão aguda (BLOOMER et al., 2005; DEMINICE et al., 2010; FISHER et al., 2011; FARNEY et al., 2012) ou um treinamento de curta duração (HELLSTEN; APPLE; SJÖDIN, 1996).

O estresse oxidativo gerado pelo exercício pode ser atenuado pelos antioxidantes e seus efeitos no treinamento físico podem ser paradoxais, dependendo da dosagem, da duração da intervenção (aguda ou crônica) e do tipo de antioxidante administrado. Na última década, tem sido sugerido que a administração crônica de doses elevadas de antioxidantes antes do exercício pode atenuar vias de sinalização mediadas por EROs, necessárias a adaptações celulares favoráveis ao desempenho e à saúde. Assim sendo, as adaptações desejáveis ao treinamento podem ser prejudicadas se as concentrações fisiológicas de EROs forem reduzidas, devido a uma inapropriada suplementação com antioxidantes (GOMEZ-CABRERA et al., 2015; VIDAL; ROBINSON; IVES, 2017).

As interferências negativas da suplementação de antioxidantes em sinalizações e respostas adaptativas ao treinamento têm sido observadas com administração de compostos bioativos isolados (i. e. vitamina E, vitamina C, ácido lipóico, resveratrol) (GOMEZ-CABRERA et al., 2015; VIDAL; ROBINSON; IVES, 2017); porém, não há evidências dessas associações com a utilização de alimentos/ extratos ricos em antioxidantes (FUNES et al., 2011; JÓWKO et al., 2011). Além disso, estudos sugerem que a suplementação de alimentos ricos em polifenóis, particularmente em antocianinas, pode oferecer proteção antioxidante no exercício, independentemente da duração da intervenção (McANULTY et al., 2011; McLEAY et al., 2012). Portanto, a administração aguda de um alimento rico em antocianinas poderia ser benéfica, por exemplo, antes de uma sessão de exercício de alta intensidade, quando há um provável aumento da formação de EROs associado ao esforço exaustivo.

Considerando que o HIIT está entre os métodos de treinamento mais populares, principalmente, devido à sua eficiência no tempo e superiores melhorias de desempenho quando comparadas com o treinamento contínuo tradicional de intensidade moderada (MILANOVIĆ; SPORIŠ; WESTON, 2015) e que o fruto juçara pode ser benéfico aos praticantes desse método de exercício pela sua capacidade antioxidante, a qual já foi demonstrada em indivíduos saudáveis (CARDOSO et al., 2015), o uso do fruto juçara na alimentação de indivíduos praticantes desse método de exercício pode contribuir para o aumento da atividade antioxidante e, possivelmente, atenuar o estresse oxidativo gerado pelo exercício, favorecendo a recuperação pós-exercício. Ademais, a relevância do presente estudo pode contribuir para a preservação da palmeira *Euterpe edulis* Martius que, notoriamente, encontra-se em risco de extinção. Outrossim, a valorização de uma fonte alimentar rica em antioxidantes presente na região de estudo e ainda pouco estudada em humanos e no exercício, pode ser promissora tanto no âmbito científico, quanto nos âmbitos socioeconômico e nutricional. Diante do exposto, o presente estudo teve como pergunta de partida: Qual é o efeito do consumo agudo do suco de juçara (*Euterpe edulis* Martius) sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo antes e após uma sessão de HIIT?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do consumo agudo do suco de juçara (*Euterpe edulis* Martius) sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo em indivíduos fisicamente ativos antes e após uma sessão de HIIT.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Realizar a caracterização química e da atividade antioxidante do suco de juçara;
- Caracterizar a população do estudo quanto ao estado nutricional, composição corporal, nível de atividade física e capacidade antioxidante total da dieta (CATd) habitual;
- Avaliar a concentração de fenóis totais no plasma;
- Avaliar a concentração de ácido úrico no soro;
- Avaliar a concentração de glutathione reduzida (GSH) e glutathione oxidada (GSSG) no sangue total e a relação GSH:GSSG;
- Avaliar a capacidade antioxidante total (TAC, do inglês *Total Antioxidant Capacity*) e estado oxidante total (TOS, do inglês *Total Oxidant Status*) no soro e o índice de estresse oxidativo (IEO) = TOS/TAC;
- Avaliar a concentração de proteínas carboniladas (PC) no plasma;
- Avaliar a atividade das enzimas antioxidantes: glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) nos eritrócitos.

CAPÍTULO 2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis* Martius)

O gênero *Euterpe* está amplamente distribuído na América Central e do Sul, em florestas de terras baixas e montanhas úmidas. O palmito juçara (*Euterpe edulis* Martius) também conhecido popularmente como içara, ensarova, ripeira, ripa, entre outros nomes, é encontrado na Mata Atlântica, floresta ombrófila densa, e se distribui do norte até o sul do Brasil, destacando-se nas regiões litorâneas, desde o Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Pernambuco, Sergipe, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e norte do Rio Grande do Sul. Este fruto também é encontrado no nordeste da Argentina e sudeste do Paraguai em florestas tropicais entre o nível do mar e até 1.000 metros de altitude (REITZ; KLEIN; REIS, 1978; HENDERSON, 2000; CALLEGARI, 2003; MAC FADEN, 2005; SILVA, 2005; LORENZI et al., 2006; SCHIRMANN, 2009).

A espécie *Euterpe edulis* Martius no Estado de Santa Catarina ocorre desde o nível do mar até 600 metros de altitude, com topografia complexa resultado de diferentes altitudes, inclinações, composição de solo e condições climáticas (EMBRAPA, 1998; EPAGRI, 1998). As palmeiras *Euterpe edulis* Martius possuem o estipe simples e crescem até 20 metros de altura, produzindo milhares de frutos drupáceos, esféricos, de cor quase preta ou negro-vinosa quando maduros, com mesocarpo carnoso muito fino, unisseminado, com embrião lateral, albume abundante e homogêneo. Estes medem de 2 a 4 cm de diâmetro e pesam em média 1 g, podendo formar cachos que podem atingir 5 kg, sendo a média de 3 kg (REITZ, 1974; HENDERSON, 2000; LORENZI; MELLO FILHO, 2001; MAC FADEN, 2005) (Figura 1).

Segundo Carvalho (2003) e Mac Faden (2005), o palmito juçara produz um palmito de excelente qualidade, com valor econômico elevado e amplamente consumido na alimentação humana, sendo inicialmente consumido pela população rural e posteriormente implantou-se nas cidades, porém é uma planta que não rebrota na base e o corte implica na sua morte.

Durante as décadas de 30 e 40 o palmito de juçara era vendido apenas em feiras. A partir da década de 40 houve alteração do processo de produção do palmito de juçara por várias indústrias de conserva, que funcionavam como pólos centralizadores de matéria prima, estimulando o corte de juçara e intensificando a comercialização do produto. Estas in-

Figura 1 – Cachos da Palmeira Juçara.



Fonte: Schulz et al., 2016.

dústrias foram implantadas nos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo (REIS, 2000; REIS; KAGEYAMA, 2000).

As causas da devastação de *Euterpe edulis* Martius no seu *habitat* natural tiveram origem na exploração clandestina e excessiva do palmito, além do processamento e comercialização ilegais (FANTINI et al., 2000).

O palmitreiro juçara possui importância ecológica na cadeia alimentar do ecossistema florestal, pois apresenta forte interação com os animais e desempenha papel significativo na nutrição da fauna da Mata Atlântica através de seus frutos (REIS; KAGEYAMA, 2000). Devido à ação extrativista e corte indiscriminado do palmito, a regeneração natural está comprometida, pois o corte das populações nativas do palmitreiro, incluindo as plantas que produzem sementes, implica na não regeneração natural da planta após a retirada do palmito (CHAIMSOHN; CHIQUETTO, 2013; BRASIL, 2014).

A exploração dos frutos juçara, com o desenvolvimento de agroflorestas, pode promover o acesso a mercados e geração de renda a

agricultores. Mesmo após a retirada da polpa, os frutos ainda podem fornecer sementes, contribuindo para o repovoamento da espécie em áreas onde já foi extinto (COSTA et al., 2008). Assim sendo, a comercialização de bebida ou polpa proveniente dos frutos juçara é considerada uma forma de agregar sustentabilidade ambiental e rendimento econômico aos agricultores que vivem desta atividade, proporcionando ainda a conservação do bioma da Mata Atlântica (MAC FADEN, 2005; SILVA, 2005; SCHULTZ, 2008).

Para a conservação da palmeira juçara e das florestas nativas, além do potencial socioeconômico da segurança alimentar e geração de renda das comunidades rurais na área de abrangência da Mata Atlântica, o processamento da polpa dos frutos juçara tem sido apontado como uma alternativa e estratégia importante (NOGUEIRA; HOMMA, 1998; MAC FADDEN, 2005; SILVA, 2005).

Os benefícios do uso do fruto juçara em forma de polpa e para a produção e comercialização como açaí ainda está sendo fomentado, mas já apresenta grande aceitação no sul e sudeste do Brasil, como Santa Catarina, Paraná e São Paulo (SILVA; BARRETTO; SERÔDIO, 2004; MAC FADEN, 2005; SCHULTZ 2008).

Há controvérsia sobre qual seria o melhor termo para comercialização e marketing do suco e polpa provenientes do fruto juçara, pois a denominação açaí confere influência comercial no mercado nacional e internacional por sua notoriedade, ao mesmo tempo que o nome juçara atribui importância ao apelo socioambiental. A expressão "juçaí" já está sendo considerada por alguns pesquisadores (CHAIMSOHN; CHIQUETTO, 2013).

Devido à pequena proporção de polpa que apresentam (cerca de 15% do peso dos frutos), os frutos juçara não são comercializados para o consumo *in natura* (SILVA; BARRETTO; SERÔDIO, 2004; SCHULTZ, 2008). A polpa é geralmente macerada com água e separada da sua semente para se obter uma bebida espessa, púrpura que pode ser utilizada para a produção de sucos, sorvetes, compotas, entre outros produtos (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014).

2.1.1 Composição química e nutricional do fruto juçara (*Euterpe edulis Martius*)

De acordo com o estágio de maturação, condições climáticas, região e condições de cultivo, a composição química, o teor de compostos bioativos, o perfil de ácidos graxos e a atividade antioxidante dos frutos juçara apresentam variações (BORGES, 2013).

Em estudo realizado por Schulz e colaboradores (2015), observou-se que a polpa de juçara produzida no estado de Santa Catarina apresentou, no último estágio de maturação, a seguinte composição, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição nutricional da polpa do fruto juçara (*Euterpe edulis* Martius).

Determinações	Quantidade
Umidade	56,36*
Proteínas	3,02*
Lipídeos	22,07*
Potássio (K)	1291,54**
Sódio (Na)	14,24**
Cálcio (Ca)	596,69**
Magnésio (Mg)	183,00**
Ferro (Fe)	7,26**
Zinco (Zn)	2,85**
Manganês (Mn)	8,46**

* Valores expressos em g por 100 g⁻¹ de matéria fresca.

** Valores expressos em g por 100 g⁻¹ de matéria seca.

Fonte: adaptado de SCHULZ et al., 2015.

Borges (2010) analisou a composição de frutos juçara colhidos em cinco regiões diferentes de Santa Catarina e observou que, dependendo de seu local de colheita, o conteúdo de lipídeos do fruto juçara apresentou variação de 18,45 - 44,05% de matéria seca, sendo os ácidos graxos insaturados os mais prevalentes, em torno de 70% do total da fração lipídica. Os ácidos graxos monoinsaturados apresentaram variações de 45,53 - 56,82% do total da fração lipídica e o maior componente destes ácidos graxos foi o ácido oléico (44,63 - 55,61% em relação a fração lipídica total). Os ácidos graxos poli-insaturados foram evidenciados

pelos ácidos α -linolênico e, predominantemente, linoléico (18,19 - 25,36%). A quantidade de ácidos graxos saturados encontrada foi de 24,32 - 28,89% em relação a fração total de lipídeos, sendo o ácido palmítico (20,25 - 25,00% em relação a fração lipídica total) o mais prevalente. Sobre os demais componentes, o conteúdo de proteína total variou de 5,13 - 8,21% em matéria seca, cinzas (1,55 - 3,32% em matéria seca) e umidade (34,95 - 42,47%).

Em relação aos micronutrientes, os frutos juçara possuem minerais, como: zinco, ferro, manganês, sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo (SILVA; BARRETTO; SERÓDIO, 2004; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2015).

Dentre os compostos fenólicos, as antocianinas se destacam nos frutos juçara, sendo responsáveis por sua pigmentação (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; BICUDO et al., 2014; LIMA MDOS et al., 2015). Os ácidos fenólicos predominantes nos frutos juçara são os ácidos benzoico, cafeico, clorogênico, ferúlico, protocatecuico, siríngico, gálico, vanílico e p -cumárico (BORGES et al., 2011; BORGES, 2013; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2015).

Harbone et al. (1994) e Bicudo et al. (2014) identificaram antocianinas nos frutos juçara como a cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo. Schultz (2008) encontrou 58,5 mg/100 g de cianidina 3-O-glicosídeo e Cardoso et al. (2015) encontrou 1,07 de cianidina-3-O-rutinosídeo e 0,23 mg/100 g cianidina-3-O-glicosídeo.

Os frutos juçara colhidos no verão possuem quantidades maiores de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante que frutos colhidos no inverno. As condições de crescimento das palmeiras, a sazonalidade, a variabilidade genética das espécies e o processamento industrial influenciam a composição nutricional e as concentrações de antocianinas na polpa ou suco de juçara (BORGES et al., 2011).

Durante o processo de pasteurização pode haver perdas de 5 a 30% de antocianinas, de acordo com as condições de temperaturas e pH utilizadas. Em função das antocianinas serem mais estáveis em pH baixos, nota-se que há diminuição das perdas de antocianinas na redução do pH e a adição de ácido cítrico favorece a estabilidade das antocianinas. As antocianinas são os antioxidantes que aparecem em maior quantidade no fruto juçara (OLIVEIRA; FARIAS NETO; SILVA, 2007).

Estudos realizados com o fruto juçara demonstraram efeito antioxidante *in vitro* (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; VIEIRA et al., 2013; BICUDO et al., 2014), em modelos experimentais animais (CASTRO et al., 2014) e em seres humanos (CARDOSO et al.,

2015). Este efeito antioxidante é fundamental para a atenuação da produção e da ação danosa de radicais livres.

2.2 RADICAIS LIVRES, ANTIOXIDANTES E ESTRESSE OXIDATIVO

2.2.1 Radicais Livres

O termo radical livre refere-se a qualquer átomo ou molécula que apresenta um ou mais elétrons não pareados em seu orbital atômico ou molecular (HALLIWELL, 2006; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). A presença de elétron(s) não pareado(s) em sua configuração atômica provoca a atração de outras moléculas, justificando a elevada reatividade das espécies radicais (HOLMBERG, 1984; JENKINS, 1988; YU, 1994).

A produção de radicais livres no organismo pode resultar de processos celulares fisiológicos, tais como a atividade metabólica de fagócitos e a respiração mitocondrial, bem como de fatores externos, como, por exemplo, a exposição ao tabaco, poluentes ambientais, radiação, drogas, pesticidas, solventes industriais e ozônio (ROSS, 1999).

A geração de radicais livres ocorre, normalmente, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma e pode ser favorecida pelos íons ferro e cobre (KOURY; DONANGELO, 2003). Por meio da cadeia transportadora de elétrons, a mitocôndria é a principal fonte geradora de radicais livres (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004).

A maioria dos radicais livres age muito rapidamente, podendo ser produzidos com a mesma velocidade com que desaparecem, sendo que quando acometem uma molécula, podem transformá-la em um outro radical livre, gerando reações em cadeia bastante danosas (YOUNGSON, 1995).

Os radicais livres são derivados de moléculas de oxigênio, nitrogênio e enxofre, fazendo parte dos grupos de moléculas denominadas espécies reativas de oxigênio (EROs), espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e espécies reativas de enxofre (EREs). As EROs incluem os radicais livres como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidroperóxil (HO_2^{\cdot}), o radical hidroxil ($\cdot OH$), o óxido nítrico e outras espécies reativas como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio *singlet* (1O_2), ácido hipocloroso (HClO) e o peróxido nitrito ($ONOO^{\cdot}$) (HARMAN, 1981; CAROCHO; FERREIRA, 2012). As ERNs provêm do óxido nítrico por meio da reação do $O_2^{\cdot-}$, formando $ONOO^{\cdot}$. As EREs são facilmente formadas a partir de tióis em reação com EROs (LÜ et al., 2010).

Dentre as formas reativas de oxigênio, o O_2 apresenta uma baixa capacidade de oxidação, o $\cdot OH$ mostra uma pequena capacidade de difusão e é o mais reativo na indução de lesões nas moléculas celulares. O H_2O_2 é capaz de atravessar a membrana nuclear e induzir danos na molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) por meio de reações enzimáticas, porém não é considerado um radical livre verdadeiro (ANDERSON, 1996).

Por meio de reações de abstração de hidrogênio, reação de adição, reação de autoaniquilação e dismutação os radicais livres podem reagir com moléculas circundantes pela doação de elétrons, redução de radicais, recepção de elétrons e oxidação de radicais (FINKEL, 1998).

Os efeitos dos radicais livres no organismo são controlados pelos antioxidantes, sejam eles produzidos pelo próprio corpo, sejam eles obtidos pela alimentação. Existem dois mecanismos pelos quais os antioxidantes são capazes de inibir a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos: o primeiro envolve a inibição da formação de radicais livres e o segundo abrange a eliminação de radicais importantes, como alcoxila e peroxila, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (NAMIKI, 1990; SIMIC; JAVANOVIC, 1994).

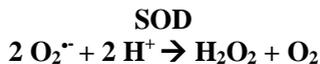
2.2.2 Antioxidantes

Os antioxidantes são responsáveis pela proteção do organismo contra a ação oxidativa dos radicais livres e podem ser encontrados naturalmente em nosso organismo e em alimentos (PVOA, 1995; YOUNGSON, 1995; HALLIWELL; GUITTERIDGE, 2000).

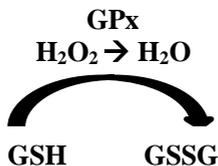
Os sistemas de defesa antioxidante são divididos em não-enzimático (SANE) ou exógeno e enzimático (SAE) ou endógeno. Moléculas como as vitaminas C e E, flavonóides, selênio e carotenóides, derivadas da alimentação, fazem parte do SANE (WISEMAN; HALLIWELL, 1996; NORDBERG; ARNÉR, 2001; SCANDALIOS, 2005). O SAE é composto, principalmente, por três enzimas: superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx) e catalase (CAT). Estas enzimas oferecem proteção ao organismo através da remoção do $O_2^{\cdot -}$ e do H_2O_2 , convertendo-os em espécies menos reativas (FINKEL, 2003; SCANDALIOS, 2005). O sistema enzimático antioxidante parece ser o principal meio de remoção de EROs formadas durante o metabolismo intracelular (YU, 1994).

Superóxido dismutase (SOD) é uma enzima que repara as células e reduz os danos causados pelo $O_2^{\cdot -}$, o radical livre mais comum no corpo,

catalisando a conversão do $O_2^{\cdot-}$ em O_2 e H_2O_2 . A SOD pode ser encontrada sob duas formas: no citoplasma é dependente de cobre e zinco (SOD-Cu/Zn) e na mitocôndria necessita do manganês como co-fator (SOD-Mn) (JAIN et al., 2013).



A glutatona peroxidase (GPx) tem como papel biológico proteger o organismo contra danos oxidativos e sua função bioquímica é reduzir hidroperóxidos lipídicos para os seus álcoois correspondentes, além de reduzir o H_2O_2 livre à H_2O . Foram identificadas diferentes isoformas de GPx no organismo humano. A GPx1 é encontrada no citoplasma de quase todos os tecidos de mamíferos e é a versão mais abundante, cujo substrato preferido é o H_2O_2 . A GPx2 é uma enzima intestinal e extracelular, enquanto a GPx3 é especialmente abundante no plasma e no meio extracelular. A GPx4 é expressa em quase todas as células de mamíferos, embora em níveis muito mais baixos e tem uma alta preferência por hidroperóxidos lipídicos (JAIN et al., 2013). A GPx pode apresentar-se no citoplasma ou na mitocôndria e existe sob duas formas: dependente e independente de selênio (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; GREEN; BRAND; MURPHY, 2004; JAIN et al., 2013). A GPx também age como mecanismo de proteção contra o estresse oxidativo, convertendo a glutatona reduzida (GSH) à glutatona oxidada (GSSG), através da remoção de H_2O_2 para formar H_2O , promovendo ação oxidante em função da ligação dissulfeto existente em sua estrutura. A ação da glutatona redutase (GR), responsável pela recuperação da GSH, é fundamental para a manutenção da integralidade do ciclo redox da glutatona e, conseqüentemente, do equilíbrio adequado entre os sistemas de defesa enzimáticos (ROVER; HOEHR; VELLASCO, 2001).



A catalase (CAT) é uma enzima encontrada em quase todos os organismos vivos expostos ao O_2 e cataliza a decomposição de H_2O_2 em H_2O e O_2 . A cada segundo uma molécula de catalase pode converter

milhões de moléculas de H_2O_2 à H_2O e O_2 , tendo um dos mais elevados números de *turnover* de todas as enzimas, protegendo assim as células dos efeitos tóxicos do H_2O_2 (CHELIKANI; FITA; LOEWEN, 2004).



As reações catalizadas pelas enzimas SOD, CAT e GPx podem ser observadas na Figura 2.

Figura 2 – Esquema ilustrativo das reações catalizadas pela Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutationa Peroxidase (GPx). Ilustração da autora.



O SANE relaciona-se a um grupo de antioxidantes que pode ser agrupado com compostos produzidos *in vivo*, como é o caso da glutatona, da ubiquinona, do ácido úrico e em compostos obtidos diretamente da alimentação tais como vitaminas E, C, β -caroteno e outros (VASCONCELOS et al., 2007).

O ácido úrico apresenta atividade antioxidante significativa e sua concentração no plasma é maior que a de outros antioxidantes, como vitaminas C e E (GHISELLI et al., 2000). Atua também na estabilização do ascorbato, reage com grande variedade de espécies reativas e inibe indiretamente a oxidação lipídica pela ligação ao ferro e cobre. Além disso, se liga a metais de transição pró-oxidantes, impedindo sua reação com H_2O_2 para produzir $\cdot\text{OH}$ (JAIN et al., 2013).

Considerando os antioxidantes exógenos, aqueles provenientes da alimentação, Wootton-Beard & Rya (2011) consideram improvável a ação antioxidante direta dos compostos dietéticos devido à sua baixa biodisponibilidade. Por outro lado, é proposto que a biodisponibilidade de antioxidantes dietéticos pode ser subestimada devido à falha ou incapacidade de medir metabólitos secundários durante o processo de digestão (MANACH; MAZUR; SCALBERT, 2005).

O sistema de defesa antioxidante é responsável por proteger o organismo contra a intensificação dos danos celulares que podem levar ao estresse oxidativo (JI, 1999; MCGINLEY; SHAFAT; DONNELLY, 2009; RISTOW et al., 2009).

2.2.3 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo foi inicialmente definido como um distúrbio no balanço entre pró-oxidantes e antioxidantes, com prevalência dos pró-oxidantes, potencialmente resultando em danos à macromoléculas (i.e. oxidação de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos) (SIES; CADENAS, 1985; SIES, 1993; 1997). Definições atuais propõem que o estresse oxidativo pode também envolver rupturas na sinalização e no controle de vias reguladas por mecanismos de oxidorredução (redox) (JONES, 2006; 2008; STAHL; SIES, 2012).

A diminuição de antioxidantes, deficiência de antioxidantes na alimentação ou alimentação rica em componentes que possam aumentar o estresse oxidativo, produção de EROs e ERNs pela exposição elevada de O₂, presença de toxinas que são metabolizadas e produzem EROs/ERNs ou ativação excessiva de sistemas naturais de EROs/ERNs também podem resultar no estresse oxidativo (HALLIWELL; GUITTERIDGE, 2000).

O estresse oxidativo pode ser avaliado por meio de diversos e complexos métodos. Para a detecção dos danos oxidativos, três linhas metodológicas têm sido empregadas, visto que ainda não há um padrão de referência. Estas linhas são: determinação da concentração de antioxidantes, determinação de indicadores indiretos da atividade das espécies reativas, como por exemplo, a detecção de produtos derivados da oxidação de macromoléculas e avaliação direta das espécies reativas (JACKSON, 1999).

O estresse oxidativo pode ser produzido durante o exercício, porém sua magnitude dependerá do tipo, da intensidade e da duração do exercício (BLOOMER, 2008; POWERS; NELSON; HUDSON, 2011).

2.3 TREINAMENTO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE (HIIT, do inglês *High-Intensity Interval Training*)

O treinamento intervalado pode ser definido como períodos intermitentes de exercício intenso separados por períodos de recuperação (FOX et al., 1973). O treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) é um tipo de regime de exercícios que recentemente se tornou popular devido à sua eficácia de tempo em comparação com as formas mais tradicionais de treinamento de resistência. O HIIT produz resultados de treinamento semelhantes aos tradicionais, como as abordagens convencionais de treinamento de resistência, aumentando a atividade enzimática mitocondrial, a capacidade muscular-oxidativa e o conteúdo

muscular de glicogênio, compensando a redução no volume de treinamento com um aumento da intensidade da energia (COYLE, 2005; GIBALA et al., 2006; ZWETSLOOT et al., 2014).

Segundo Paton e Hopkins (2004), a intensidade dos intervalos no treinamento intervalado pode ser classificada em supramáxima, máxima e submáxima, onde o “máximo” refere-se à intensidade correspondente ao consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{ max}}$). Os intervalos supramáximos são executados no esforço total ou quase total; os intervalos máximos iniciam com um esforço menor que o máximo, mas o esforço terá se aproximado ao máximo no final de cada intervalo; os intervalos submáximos podem ser considerados como próximos ao ritmo limiar anaeróbico (um ritmo que pode ser mantido por ~ 45 min), e o esforço terá subido para próximo ao máximo ao final de cada intervalo. O HIIT envolve breves episódios intermitentes de exercício (geralmente maior que 90% do $VO_{2\text{ max}}$) separados por alguns segundos ou minutos de repouso ou exercício de baixa intensidade durante o período de recuperação.

Investigações mostraram que o HIIT estimula adaptações musculares semelhantes ao treinamento de resistência contínuo. Especificamente, mostrou-se que o HIIT estimula a biogênese mitocondrial e atividade de enzimas oxidativas (BURGOMASTER; HEIGENHAUSER; GIBALA, 2006; BURGOMASTER et al., 2008; GIBALA; MCGEE, 2008; RAKOBOWCHUK et al., 2008; LITTLE et al., 2010).

Nos últimos anos o HIIT foi ganhando popularidade como um método eficaz de melhorar a aptidão anaeróbica e aeróbica em apenas algumas sessões (BURGOMASTER et al., 2005; BURGOMASTER; HEIGENHAUSER; GIBALA, 2006). A eficácia do HIIT decorre de uma combinação de alta demanda anaeróbica, principalmente nas primeiras sessões e um aumento da contribuição aeróbica cada vez mais alta quando as sessões de alta intensidade são repetidas (BOGDANIS et al., 1996; PAROLIN et al., 1999; GIBALA et al., 2012). Como resultado, as adaptações incluem rápido aumento na capacidade oxidativa do músculo, como refletido pelas principais enzimas mitocondriais, transportadores de glicose e transportadores de lactato da membrana muscular (BURGOMASTER et al., 2007). O fator chave para o sucesso deste modelo de exercício é a combinação de alta intensidade, muitas vezes correspondendo a um valor maior que 200% da potência de saída induzindo captação máxima de oxigênio, resultando em grandes mudanças na relação adenosina trifosfato (ATP): adenosina difosfato (ADP)/ adenosina monofosfato (AMP), na ativação de 5'- proteína

quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) e co-ativador do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR) (GIBALA et al., 2009; GIBALA et al., 2012).

O grande aumento do metabolismo durante o HIIT pode causar aumento da produção de EROs e ERNs que podem levar ao estresse oxidativo (POWERS; JACKSON, 2008; POWERS; NELSON; HUDSON, 2011).

2.4 EXERCÍCIO FÍSICO E ESTRESSE OXIDATIVO

A descoberta de que o exercício promove estresse oxidativo em humanos foi descrita pela primeira vez em 1978. Desde o início desta descoberta, evidências indicam que altos níveis de produção de danos aos componentes celulares e níveis baixos a moderados de oxidantes desempenham importantes papéis reguladores na modulação da força muscular, controle das vias de sinalização celular e regulação da expressão gênica (DILLARD et al., 1978; DROGE, 2002; POWERS; JACKSON, 2008; McCLUNG et al., 2009; McCLUNG et al., 2010; POWERS et al., 2010).

Desde as primeiras observações, muitos estudos realizados com animais e seres humanos demonstraram que uma variedade de intensidades e modos de exercício (i. e. ciclismo, corrida e exercício resistido) resultam em aumento dos biomarcadores de danos oxidativos no sangue e no músculo esquelético (DAVIES et al., 1982; LAWLER et al., 1993; LAWLER et al., 1994; McANULTY et al., 2007; HUDSON et al., 2008; McANULTY et al., 2008; POWERS; JACKSON, 2008; QUINDRY et al., 2008). Um aumento na oxidação de macromoléculas tem sido demonstrado tanto em exercícios aeróbicos quanto em anaeróbicos (JACKSON, 2000; KONIG et al., 2001; RADAK et al., 2001; BLOOMER; GOLDFARB, 2004). Tem sido sugerido que a geração de EROs e subsequente oxidação de macromoléculas leva a um estado de estresse oxidativo, que ocorre em resposta ao exercício aeróbio, em grande parte, devido a um aumento no fluxo eletrônico mitocondrial, correspondente ao incremento no consumo de O₂ (JACKSON, 2000). Em relação ao exercício anaeróbio, outras vias de geração de EROs durante/ imediatamente após o esforço têm sido propostas, incluindo: o processo de isquemia/ reperfusão, com consequente ativação da enzima xantina oxidase; a ativação das enzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase e fosfolipase A2; danos em proteínas que contém ferro; e a auto-oxidação da adrenalina. Após o exercício intenso, distúrbios na homeostase do cálcio intracelular e eventos da inflamação

(i. e. atividade respiratória de fagócitos e metabolismo de eicosanóides), associados aos danos musculares (mecânicos e/ ou metabólicos), consistiriam em alguns dos potenciais mecanismos envolvidos no aumento na produção de EROs/ ERNs durante a recuperação. Nesse contexto, o tipo de exercício realizado (i. e. isométrico, isotônico, excêntrico, resistido, *sprint*) pode determinar a magnitude da geração de espécies reativas, bem como a extensão dos danos musculares (ZOUHAL et al., 1998; RADAK et al., 2001; BLOOMER; GOLDFARB, 2004; POWERS; NELSON; HUDSON, 2011).

O exercício anaeróbio e o exercício resistido são comumente realizados por atletas e outros indivíduos que treinam regularmente em uma tentativa de melhorar a velocidade, a força e desempenho atlético. Embora estas formas de exercício sejam úteis para esses objetivos, muitas vezes resultam em um estado agudo de estresse oxidativo, em particular em indivíduos não treinados (MARZATICO et al., 1997). Por exemplo, há relatos de aumento na concentração de biomarcadores do estresse oxidativo alguns dias depois do exercício intenso (CHILDS et al., 2001; BLOOMER; GOLDFARB, 2004). Especificamente, os produtos finais de oxidação podem estar elevados após 24 a 48h ao estímulo do exercício, sugerindo que a lesão do músculo esquelético e as respostas bioquímicas subsequentes a tal lesão podem contribuir para a oxidação de macromoléculas (MARZATICO et al., 1997; SCHIFFL; ZIERES; ZANKL, 1997; McBRIDE et al., 1998; LEE et al., 2002; BAKER et al., 2004; BLOOMER et al., 2005).

Portanto, em razão do HIIT envolver importantes componentes aeróbios e anaeróbios (FOX et al., 1973), os mecanismos relacionados à produção de EROs/ ERNs durante e/ ou após este tipo de esforço, potencialmente, podem incluir como exemplos, um elevado metabolismo mitocondrial, atividade elevada de oxidases de xantina e NADPH devido ao grande aumento no metabolismo induzido pelo estímulo anaeróbio, condições de isquemia/ reperfusão, auto-oxidação da adrenalina, alterações da homeostase do cálcio e resposta inflamatória ao dano muscular (HELLSTEN, 1994; BLOOMER; GOLDFARB, 2004; POWERS; NELSON; HUDSON, 2011; POWERS; TALBERT; ADHIHETTY, 2011; BOGDANIS et al., 2013).

Groussard et al. (2003) demonstrou que o exercício anaeróbico supramáximo de curta duração induziu o estresse oxidativo, evidenciado pela detecção direta de radicais lipídicos e por mudanças no sistema antioxidante de eritrócitos. Além disso, tem sido relatado que o exercício agudo de alta intensidade (LOVLIN et al., 1987; QUINDRY et al., 2003; BLOOMER et al., 2007) pode levar a um aumento de EROs e ERNs e

induzir um estado agudo de estresse oxidativo (FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009).

Sabe-se que as EROs podem ter efeitos positivos sobre as adaptações no treinamento físico (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006; POWERS; JACKSON, 2008), porém quando a formação de EROs supera o sistema antioxidante celular, causa danos estruturais oxidativos aos lipídeos (por exemplo, membranas celulares), proteínas e DNA (FERREIRA; REID, 2008; JONES, 2008).

Embora o estresse oxidativo gerado pelo exercício diminua ao longo do treinamento (GOMEZ-CABRERA et al., 2015), o consumo de uma alimentação pobre em antioxidantes pode exacerbar o estresse oxidativo durante e/ ou após o esforço e prejudicar o desempenho e recuperação, mesmo em indivíduos treinados (WATSON et al., 2005). Além disso, vale ressaltar que o estresse oxidativo crônico pode favorecer a uma variedade de doenças (MARZATICO et al., 1997). Por outro lado, há evidências de que o estresse oxidativo induzido pelo exercício pode ser modulado pela bioatividade de compostos fenólicos dietéticos. Por exemplo, benefícios de antioxidantes na recuperação após o esforço intenso têm sido associados ao consumo de alimentos com alta concentração de antocianinas (CONNOLLY et al., 2006; McANULTY et al., 2011; McLEAY et al., 2012; BELL et al., 2014).

2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS FENÓLICOS, INCLUINDO AS ANTOCIANINAS E SEUS EFEITOS NO ESTRESSE OXIDATIVO GERADO PELO EXERCÍCIO

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais e estão amplamente distribuídos no reino vegetal (SHAHIDI; NACZK, 1995).

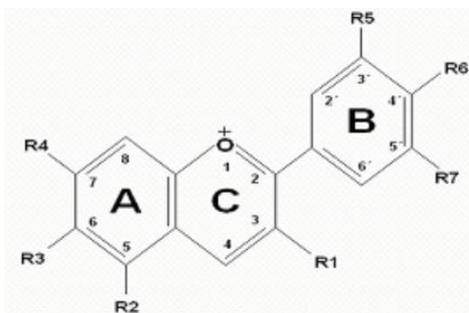
Oriundos do metabolismo secundário das plantas, os compostos fenólicos são essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiação ultravioleta (UV), dentre outras (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Em frutos do tipo *berries*, a quantidade de compostos fenólicos varia de acordo com a espécie, região de cultivo, condições climáticas, maturação, tempo de colheita e condições de armazenamento (HAKKINEN; TORRONEN, 2000; HAKALA et al., 2003; BENVENUTI et al., 2004; SKUPIEŃ; OSZMIĄŃSKI, 2004).

Os compostos fenólicos geralmente são encontrados em todo reino vegetal. Este grupo pode se dividir em flavonóides (antocianinas,

flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (KING; YOUNG, 1999). A Figura 3 mostra a estrutura química das antocianinas.

Figura 3 - Estrutura química das antocianinas (LÓPEZ; JIMÉNEZ; VARGAS, 2000).



O termo antocianina é de origem grega (*anthos* = flor; *kianos* = azul) e é responsável pelas cores azul, roxa e as tonalidades de vermelho (HARBORNE; GRAYER, 1988; BOBBIO; BOBBIO, 2001). É responsável também por várias outras cores observadas em flores, frutos, folhas, caules e raízes sendo atribuída a pigmentos quimicamente similares aos que deram origem à “flor azul” (BROUILLARD, 1982).

Dentre os pigmentos de origem vegetal, após a clorofila, as antocianinas são o grupo mais importante (HARBORNE; GRAYER, 1988). São encontradas em maior quantidade nas angiospermas, compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água e sensíveis ao calor do reino vegetal e, na maior parte das vezes, apresentam-se glicosadas com açúcares que auxiliam na estabilização da molécula (FRANCIS, 1989; SHAHIDI; NACZK, 1995; BRIDLE; TIMBERLAKE, 1997). Esses compostos são glicosídeos que liberam agliconas, também denominadas de antocianidinas e, dentre as encontradas na natureza, apenas seis estão presentes em alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina, que diferem entre si quanto ao número de hidroxilas e grau de metilação, presentes no anel β . Este processo ocorre por hidrólise ácida (MACHEIX; FLEURIT; BILLOT, 1990).

Além de conferir coloração característica aos vegetais, as antocianinas apresentam propriedades que associam sua ingestão a hábitos saudáveis de alimentação, destacando-se sua potente atividade

antioxidante, quando comparada aos antioxidantes clássicos como butilato hidroxil anisol, butilato hidroxil tolueno e alfa tocoferol (vitamina E) (NARAYAN et al., 1999; WANG et al., 2000).

Segundo Melo et al. (2006), a concentração de antocianinas presente nos alimentos e sua estrutura química são fatores que determinam a eficiência da ação antioxidante das antocianinas e essa quantidade está diretamente relacionada às condições ambientais às quais os alimentos são submetidos, como pH do solo no qual foi cultivado e grau de maturação do alimento.

Em estudo que avaliou a atividade antioxidante de polpas de frutas congeladas e frutos tropicais *in natura*, verificou-se que esta é positivamente correlacionada com o conteúdo de antocianinas e polifenóis totais (KUSKOSKI et al., 2006).

Diversos estudos têm demonstrado que as antocianinas, dentre os vários efeitos fisiológicos, possuem capacidade antioxidante (SATUE´GRACIA; HEINONEN; FRANKEL, 1997; WANG; CAO; PRIOR, 1997; FALCÃO et al., 2003; KAHKÖNEN; HEINONEN, 2003; TIAN et al., 2005; LIMA et al., 2006; LONGO; VASAPOLLO, 2006; PATRAS et al., 2010; YANG; ZHAI, 2010).

Mazza et al. (2002) verificou que a concentração de antocianinas no soro de indivíduos do sexo masculino que haviam consumido 1,2 g de antocianinas através da ingestão única de 100 g de mirtilos liofilizados foi positivamente correlacionada com a capacidade antioxidante sérica.

Pilaczynska-Szczesniak et al. (2005) demonstrou que a suplementação com 150 mL/dia de suco de *chokeberry* (*Aronia melanocarpa*) – contendo 23 mg/mL de antocianinas, por quatro semanas, melhorou o potencial antioxidante do plasma e da urina de atletas remadores, o que possivelmente contribuiu na redução dos danos oxidativos induzidos por um teste incremental em remergômetro.

Metens-Talcott et al. (2008) observou aumento significativo da capacidade antioxidante no plasma e biodisponibilidade de antocianinas em voluntários saudáveis que consumiram 7 mL/kg de peso de suco de açaí e polpa de açaí, contendo 0,17 mg/mL de antocianinas.

Com respeito ao efeito do consumo de frutos ricos em antocianinas sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo gerados pelo exercício, o Quadro 1 mostra o estado da arte referente a estes estudos.

Quadro 1 - Estado da arte referente a estudos que avaliaram o efeito do consumo de frutos ricos em antocianinas sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo gerados pelo exercício (continua).

Autores/ Ano/ Local	População/ Desenho do estudo	Estratégia de dosagem/ Quantidade de antocianinas (ACN) por dia	Protocolo de Exercício/ Tempo de duração	Biomarcadores de estresse oxidativo avaliados	Principais resultados
HOWATSON et al., 2010 – Reino Unido	20 maratonistas recreativos (13 homens e 7 mulheres) foram designados para consumir suco de cereja ou placebo 5 dias antes, no dia e 48h após uma corrida de maratona	236 mL de suco de cereja duas vezes por dia: 5 dias pré-teste, no dia do teste e 2 dias após o teste/ 80 mg de ACN/dia	Maratona Grupo tratado: 3:48:04h Grupo placebo: 4:15:48h	TAS, PC e TBARS	↑ TAS ↓ TBARS
BOWTELL et al., 2011 – Reino Unido	10 homens bem treinados realizaram duas tentativas de 10 séries de 10 contrações de extensão de joelhos unilateral. Os testes foram separados por duas semanas. Os participantes consumiram suco de cereja concentrado ou placebo 7 dias antes, no dia e 48h após o teste	30 mL de suco de cereja duas vezes por dia: 7 dias pré-teste, no dia do teste e 2 dias após o teste/ 547 mg de ACN/dia	Duas tentativas de 10 séries de 10 contrações de extensão de joelhos unilateral com 80% de uma repetição máxima (3 s)	TAS e PC	↓ PC
Mc ANULTY et al., 2011 – Estados Unidos	25 corredores treinados foram designados para o grupo que consumiu mirtilos ou grupo controle (que mantiveram a dieta habitual) 6 semanas antes de uma corrida em esteira com duração de 2.5h	250 g de mirtilos diariamente por 6 semanas e 375 g 1h antes do teste/ O estudo não traz a quantidade de ACN administrada	Corrida: 2.5h	F2-IsoP, bases nucleicas oxidadas, FRAP, homocisteína e cortisol	↓ F2-IsoP
BELL et al., 2014 – Reino Unido	16 ciclistas bem treinados foram designados para consumir suco de cereja ou placebo duas vezes por dia durante 7 dias consecutivos e nos dias 5, 6 e 7 realizaram ciclismo de alta intensidade	30 mL de suco de cereja duas vezes por dia: 4 dias pré-teste e no dia de cada teste/ 547 mg de ACN/dia	Ciclismo de alta intensidade/ 66 sprints com duração de 5, 10 ou 15 s	Hidroperóxidos lipídicos	↓ Peroxidação lipídica
BELL et al., 2015 – Reino Unido	16 ciclistas bem treinados foram designados para consumir suco de cereja ou placebo duas vezes por dia durante 8 dias (antes e após um ciclismo de alta intensidade)	30 mL de suco de cereja duas vezes por dia: 4 dias pré-teste, no dia do teste e 3 dias após o teste/ 547 mg de ACN/dia	Ciclismo de alta intensidade/ 66 sprints com duração de 5, 10 ou 15 s	Hidroperóxidos lipídicos	→ Hidroperóxidos lipídicos

TAS: Total Antioxidant Status/ Estado Antioxidante Total; **PC:** Protein Carbonyls/ Proteínas Carboniladas; **TBARS:** Thibarbituric Acid Reactive Substances/ Substâncias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico; **F2-IsoP:** F2-Isoprostane/ F2-Isoprostano; **FRAP:** Ferric Reducing Antioxidant Power/ Poder Antioxidante Redutor Férrico. ↑ aumento; ↓ diminuição; → manutenção.

Quadro 1 - Estado da arte referente a estudos que avaliaram o efeito do consumo de frutos ricos em antocianinas sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo gerados pelo exercício (continuação).

Autores/ Ano/ Local	População	Estratégia de dosagem/ Quantidade de antocianinas (ACN) por dia	Protocolo de Exercício/ Tempo de duração	Biomarcadores de estresse oxidativo avaliados	Principais resultados
SADOWSKA-KREPA et al., 2015 – Polônia	7 corredores treinados foram avaliados antes e após 6 semanas de treinamento no qual foram suplementados diariamente com 100 mL de uma mistura de suco, sendo o açaí o ingrediente predominante, para avaliação da capacidade geral de resistência	100 mL de uma mistura de suco, sendo o açaí o ingrediente predominante durante 6 semanas antes do teste/ 3,13 mg de ACN/dia	Corrida: 300 m de <i>sprint</i> após um <i>warm-up</i> de aproximadamente 20 min	GSH, GPx, SOD, CAT, FRAP, ácido úrico, TBARS	↑ Capacidade antioxidante no plasma
BELL et al., 2016 – Reino Unido	16 jogadores de futebol semi-profissionais consumiram suco de cereja ou placebo duas vezes por dia por 8 dias consecutivos e em cada dia de teste de desempenho funcional	30 mL de suco de cereja duas vezes por dia: 4 dias pré-teste e no dia de cada teste/ 547 mg de ACN/dia	Testes de desempenho funcional (saltos, extensão de joelhos e agilidade) / ~ 1:30h	Hidroperóxidos lipídicos	↑ Hidroperóxidos lipídicos
FUSTER-MUÑOZ et al., 2016 – Espanha	20 atletas de endurance foram divididos em 3 grupos para ingerirem, durante 21 dias, as intervenções (suco de romã, suco de romã diluído ou frutas frescas sazonais, exceto romã) nos dias de treinamento e sem treinamento	200 mL por dia de suco de romã/ 200 mL por dia de suco de romã diluído/ 200 g de frutas frescas sazonais, exceto romã (grupo controle). O estudo não traz a quantidade de ACN administrada	Treinamento de endurance/ mais de 1h por sessão (mais de 3 sessões por semana)	PC e malondialdeído	↓ PC e malondialdeído
MCCORMICK et al., 2016 – Austrália	9 atletas de polo aquático altamente treinados foram designados para consumir suco de cereja concentrado diluído em água ou placebo por seis dias consecutivos antes do teste de desempenho. Este estudo teve desenho <i>cross-over</i> com <i>washout</i> de 5 dias	90 mL de concentrado de cereja diluído em água por 6 dias. A administração foi de 200 mL antes do treino da manhã e 400 mL após o treino do final da tarde/ 821 mg de ACN/dia	Salto vertical na água, teste de <i>sprint</i> de 10 m, teste de <i>sprint</i> repetido e teste intermitente de polo aquático/ O tempo variou entre os dias de teste de 1 a 2h	Ácido úrico e F2-IsoP	Não houve diferença significativa entre os grupos (tratado e placebo)

GSH: Glutathiona reduzida; GPx: Glutathiona peroxidase; SOD: Superóxido dismutase; CAT: Catalase; FRAP: *Ferric Reducing Antioxidant Power*/ Poder Antioxidante Redutor Férrico; TBARS: *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*/ Substâncias Reativas do Ácido Tiobarbitúrico; PC: *Protein Carbonyls*/ Proteínas carboniladas; F2-IsoP: *F2-Isoprostane*/ F2-Isoprostanol.
 ↑ aumento; ↓ diminuição.

CAPÍTULO 3 – MÉTODOS

O estudo foi dividido em duas etapas: 1) caracterização química e da atividade antioxidante do suco de juçara fornecido aos participantes do estudo e 2) ensaio clínico, os quais estão descritos a seguir.

3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS AMOSTRAS DO SUCO DE JUÇARA

Os sucos de juçara foram produzidos pela empresa especializada Duas Rodas, localizada no município de Jaraguá do Sul (SC), seguindo padronização de processamento e pasteurização, da safra de maio de 2016 com prazo de validade de 36 meses. Os frutos utilizados são procedentes de Garuva, Jaraguá do Sul e Joinville (SC).

Tendo aparência pouco densa, com aspecto de suco, as amostras foram caracterizadas como finas ou populares (BRASIL, 2000), contendo entre 8 e 11% de sólidos totais.

As amostras de sucos foram recebidas congeladas, em embalagens de 5,0 kg e foram abertas somente no dia de utilização para o processo de descongelamento, fracionamento e pesagem (250 mL) em balança eletrônica *Bioescale*[®]. Após fracionadas, as amostras de sucos foram acondicionadas em freezer (-20°C) até 12h antes de serem entregues aos participantes, as quais foram transferidas para refrigerador para o processo de descongelamento.

As análises para caracterização química e atividade antioxidante do suco de juçara foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

3.1.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados possuíam pureza analítica. Metanol, acetona, ácido cítrico, ácido gálico, acetato de sódio, ácido clorídrico (37 % m/m), reagente *Folin-Ciocalteu*, 2,2-difenil-1-picrildrazil (DPPH) e 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) foram obtidos da *Sigma Aldrich*[®] (St. Louis, EUA). Ácido bórico, ácido sulfúrico, cloreto de potássio, cloreto férrico, carbonato de sódio, éter de petróleo, hidróxido de sódio, sulfato ferroso e ácido ascórbico foram adquiridos da *Vetec*[®] (Duque de Caxias, RJ, Brasil).

3.1.2 Caracterização Química

As metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemicals* (AOAC, 2005) foram adotadas para a determinação do conteúdo de matéria seca, cinzas, proteína, lipídeos e acidez. A matéria seca foi determinada por secagem em estufa a 105 ± 5 °C até peso constante e o conteúdo de cinzas por incineração em mufla (AOAC, 940.26). Os lipídeos totais (extrato etéreo) foram determinados pelo método de extração Soxhlet (AOAC, 933.05) e o teor de proteínas pelo método Kjeldahl (AOAC, 920.152). A acidez titulável foi determinada titulando-se as amostras com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio (método 942.15).

3.1.3 Procedimentos de Extração

O preparo dos extratos para quantificação dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foi realizado com base na metodologia proposta por Rufino et al. (2010), no qual 2 mL de cada amostra foram extraídos com 10 mL de metanol em ultrassom a 25 ± 2 °C por 60 minutos USC-1400 (Unique[®], São Paulo, Brasil). Os extratos foram centrifugados a 5300/g por 15 minutos (Fanem[®] 280R, São Paulo, Brasil). Em seguida, coletou-se o sobrenadante e o resíduo centrifugado foi submetido a um novo processo de extração com 5 mL de acetona 70:30 (v/v) nas mesmas condições citadas acima. O novo sobrenadante extraído foi adicionado ao sobrenadante da primeira extração e o volume foi completado para 25 mL em balão volumétrico com água desionizada.

3.1.4 Determinação de Fenólicos Totais

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos foi determinado pelo método espectrofotométrico com reativo de *Folin-Ciocalteu* (SINGLETON; ROSSI, 1965). Em balões volumétricos de 10 mL, foram adicionados 4 mL de água desionizada e 100 µL dos extratos, seguido da adição de 0,5 mL do reagente *Folin-Ciocalteu* e 1,5 mL de solução de carbonato de sódio 20 % m/v. O volume foi ajustado para 10 mL com água desionizada e o conteúdo homogeneizado. Após 2 horas ao abrigo da luz, foi realizada a leitura da absorbância em 765 nm utilizando espectrofotômetro *Spectro Vision*[®], modelo SB1810-S (Beijing, China). Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico em 100 e 250 mL de suco.

3.1.5 Determinação de Antocianinas Monoméricas Totais

As antocianinas monoméricas totais (AMT) dos extratos das amostras foram mensuradas aplicando o método diferencial de pH proposto por Giusti e Wrolstad (2001), onde alíquotas de 0,2 mL dos extratos diluídos foram adicionadas de 1,8 mL de solução tampão cloreto de potássio 0,025M (pH 1.0) e acetato de sódio 0,4M (pH 4.5), separadamente, com absorvâncias medidas após 10 minutos em ausência de luz nos comprimentos de onda 515 e 700 nm. O conteúdo de AMT foi calculado por meio da equação:

$$AMT = \frac{A \times MM \times FD \times 100}{\epsilon \times C}$$

Onde A = absorvância ($A_{515}-A_{700}$) pH 1,0 - ($A_{515}-A_{700}$) pH 4,5; MM = massa molecular da cianidina-3-glicosídeo ($449,2 \text{ g mol}^{-1}$); FD = fator de diluição; ϵ = absorvidade molar de cianidina 3-glicosídeo (26900 mol L^{-1}); e C = concentração (mg mL^{-1}). O conteúdo total de antocianinas monoméricas foi expresso em mg equivalentes de cianidina-3-glicosídeo em 100 e 250 mL de suco.

3.1.6 Avaliação da Capacidade Antioxidante

3.1.6.1 Avaliação da capacidade antioxidante pelo método de sequestro de radicais DPPH

A capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada por meio da ação de desativação do radical DPPH por antioxidantes presentes nos extratos e realizada conforme descrito por Brand Williams, Cuvelier e Berset (1995). O percentual de inibição do radical foi medido através da leitura de absorvância a 515 nm antes (A_0) e após (A_t) a adição de 100 μL do extrato diluído em 2,9 mL do radical DPPH 0,1 mM em metanol 80% com tempo de reação fixado em 30 minutos ao abrigo da luz em temperatura ambiente. A percentagem (%) de inibição de radicais DPPH foi dada pela seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{absorvância da amostra } t=30\text{min}}{\text{absorvância do controle } t=0\text{min}} \times 100$$

Curvas padrão foram utilizadas e os resultados foram expressos em mg equivalente a ácido ascórbico e μmol Trolox em 100 e 250 mL de suco.

3.1.6.2 Avaliação potencial redutor do ferro (FRAP)

A capacidade antioxidante pelo potencial redutor férrico (FRAP, do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi avaliada pelo método descrito por Benzie e Strain (1996). Alíquotas de 200 µL dos extratos diluídos foram adicionadas a 200 µL de cloreto férrico FeCl₃, homogeneizados e acondicionados em banho de água por 30 minutos a 37 ± 2 °C. Em seguida, 3,6 mL da solução de TPTZ foram adicionados aos tubos e novamente homogeneizados. Após 10 minutos de repouso a absorbância foi mensurada em 620 nm. Os resultados foram expressos em mg equivalente a ácido ascórbico 100 g⁻¹ de suco e µmol sulfato ferrosos em 100 e 250 mL de suco.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL/ ENSAIO CLÍNICO

Este estudo caracterizou-se como um ensaio clínico randomizado, *cross-over* e unicego com intervenção alimentar única. Os participantes foram randomizados em dois grupos: Grupo Juçara (GJ) e Grupo Controle (GC), conforme sequência de números aleatórios, obtida por meio de um gerador de números aleatórios online (www.randomizer.org).

O estudo ocorreu em duas etapas e houve intervalo de sete dias (período *washout*). Em uma das etapas os participantes realizaram uma sessão de HIIT 1h após o consumo de 250 mL de suco de juçara e na outra etapa, a sessão de HIIT ocorreu 1h após o consumo de 250 mL de água (bebida controle). Em estudo que avaliou a ingestão aguda do suco de juçara (sem exercício), a porção administrada foi de 450 mL contendo aproximadamente 2 g de antocianinas (CARDOSO et al., 2015), quantidade superior quando comparada a outros estudos com diferentes sucos (DEL BO et al., 2013; TOALDO et al., 2015), porém segura e sem efeitos adversos. As bebidas (suco de juçara ou água) foram oferecidas em copos descartáveis e em temperatura refrigerada. Ambas as sessões de HIIT foram aplicadas pelo mesmo avaliador cego, ou seja, este não soube se o avaliado consumiu suco de juçara ou água. Os avaliados foram orientados a não revelar ao avaliador a intervenção consumida (i. e. suco de juçara ou água). Cada sessão de HIIT durou aproximadamente 17 minutos.

As coletas sanguíneas foram realizadas 1h antes do início da sessão de HIIT (antes do consumo do suco de juçara ou água), imediatamente após o término da sessão de HIIT e 1h após o término da sessão de HIIT. A escolha dos tempos das coletas sanguíneas foi determinada segundo Kay (2006), o qual refere que significativa concentração plasmática de

antocianinas pode ser observada entre 0,5 a 4h após seu consumo, sendo que a concentração máxima de antocianinas alcançada no plasma observada em alguns estudos ocorreu entre 1 – 2h (JENSEN et al., 2008; MERTENS-TALCOTT et al., 2008; DEL-BO et al., 2013; CARDOSO et al., 2015).

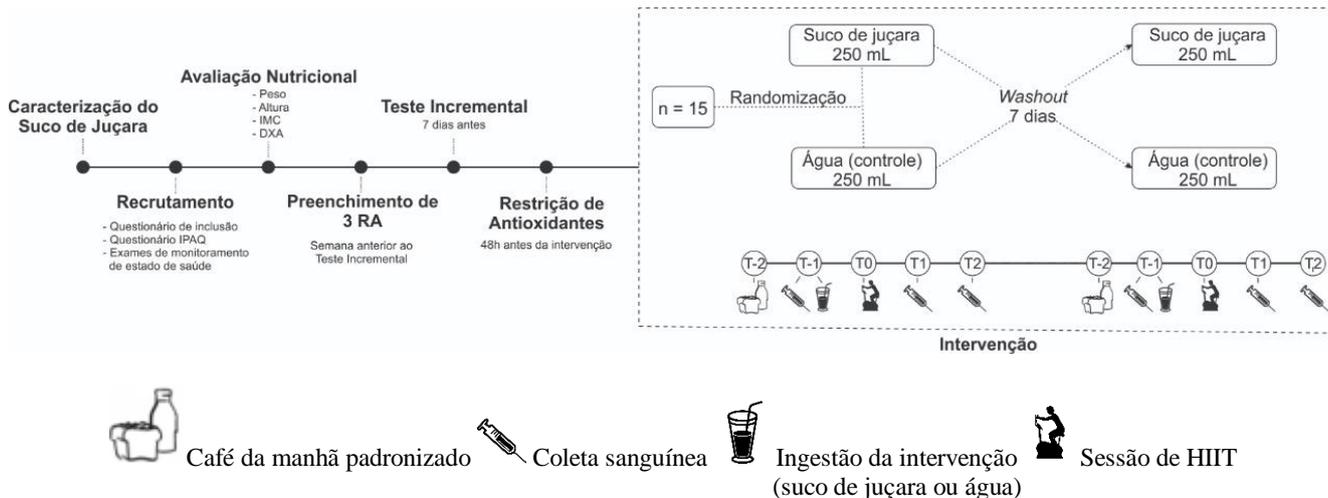
Nos dias de exercício o café da manhã foi padronizado e oferecido pelos pesquisadores – constituído de torradas e leite desnatado – e consumido 2h antes do exercício (adaptado de PANZA et al., 2016), ofertando 240 kcal (70% de carboidratos, 16% de proteínas e 14% de lipídeos).

Os participantes responderam a um questionário de inclusão elaborado pelos pesquisadores para auxiliar na triagem à pesquisa. O questionário foi composto por questões sobre escolaridade, cor da pele, hábitos alimentares, uso de medicamentos e suplementos, tabagismo, atividade física, presença de patologias e processos infecciosos e/ ou inflamatórios (APÊNDICE A).

Para padronizar e limitar a ingestão de antioxidantes durante o estudo, os participantes receberam orientações verbais e por escrito para evitarem o consumo de alimentos ricos em antioxidantes nas 48h prévias a cada intervenção. Os participantes receberam uma lista de alimentos divididos em três categorias: alimentos permitidos, alimentos permitidos com restrições e alimentos não permitidos (APÊNDICE B) (KUNTZ et al., 2014). Foram orientados por profissional nutricionista a preencherem dois registros alimentares (RA) referentes às 48h precedentes a cada intervenção, para avaliar o seguimento das orientações fornecidas. Para preenchimento dos RA os participantes receberam orientações por escrito e formulário (APÊNDICE C), os quais solicitaram informações a respeito do tipo de refeição consumida, horários, tipo de alimentos e quantidades ingeridas. Medidas caseiras padrões foram apresentadas e explicadas aos participantes, bem como o tamanho das porções com auxílio de álbum fotográfico, favorecendo a precisão das informações (ZABOTTO, 1996). As informações registradas pelos participantes em medidas caseiras foram padronizadas e transformadas em gramas e/ ou mililitros de alimentos e/ ou bebidas com auxílio de tabela para conversão de medidas caseiras (PINHEIRO et al., 2005). Além disso, neste mesmo período, foram orientados a não praticarem exercício físico intenso e a não se privarem de noites de sono. A Figura 4 mostra o desenho do estudo.

No mês anterior ao ensaio clínico, um estudo preliminar foi realizado com seis voluntários recrutados de acordo com os critérios de inclusão do estudo, conforme descrito posteriormente. Os voluntários realizaram o mesmo protocolo de exercício do ensaio clínico 1h após a

Figura 4 – Desenho do estudo. Inicialmente foi realizada a caracterização das amostras do suco de juçara oferecido aos participantes do estudo. Em seguida realizou-se o recrutamento e avaliação nutricional dos participantes do estudo. Na semana anterior ao teste incremental os participantes realizaram preenchimento de 3 registros alimentares (RA) para avaliação da capacidade antioxidante total da dieta habitual. O teste incremental foi realizado 7 dias antes das intervenções e nas 48h anteriores às intervenções os participantes foram orientados a restringirem o consumo de alimentos ricos em antioxidantes. Os participantes do estudo (n = 15) foram randomizados para receberem 250 mL de suco de juçara ou água (controle). Nos dias de exercício os participantes realizaram café da manhã padronizado 2h antes do início da sessão de HIIT (T-2). A ingestão da intervenção (suco de juçara ou água) ocorreu 1h antes do início da sessão de HIIT (T-1) e a sessão de HIIT durou aproximadamente 17 min (T0). A coletas sanguíneas foram realizadas 1h antes do início da sessão de HIIT (T-1); imediatamente após o término da sessão de HIIT (T1) e 1h após o término da sessão de HIIT (T2). Após um *washout* de 7 dias da primeira intervenção os tratamentos foram invertidos.



ingestão de suco de juçara (três voluntários) ou água (três voluntários). As coletas sanguíneas também seguiram o mesmo protocolo do ensaio clínico. Este estudo preliminar foi realizado com o objetivo de verificar a logística e exequibilidade do ensaio e, também, como uma forma de aprimorar as análises bioquímicas para avaliação da atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo.

Foi apresentado aos participantes recrutados o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido TCLE (APÊNDICE D), segundo a Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013), constando sucintamente as etapas realizadas na pesquisa. Os participantes foram convidados a participar do estudo sem qualquer constrangimento e receberam as explicações necessárias para o entendimento do protocolo experimental utilizado, bem como riscos e benefícios. A participação foi voluntária e foi comunicado aos participantes que poderiam desistir a qualquer momento do estudo, sem qualquer consequência.

O protocolo deste estudo seguiu os preceitos estabelecidos na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013) e foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), protocolo de número: 71111617.2.0000.0121 (ANEXO A).

.3 LOCAL DE ESTUDO E POPULAÇÃO ESTUDADA

O estudo foi conduzido na UFSC, localizada na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, entre os meses de setembro de 2017 à janeiro de 2018. O protocolo de exercício foi aplicado por educador físico e as intervenções alimentares foram aplicadas por nutricionistas. Ambas as intervenções foram realizadas no Laboratório de Biomecânica do Centro de Desportos da UFSC. As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose do Departamento de Análises Clínicas da UFSC. A avaliação do estado nutricional e composição corporal foi realizada no Laboratório de Antropometria do Departamento de Nutrição da UFSC. A população estudada foi composta por estudantes dos cursos de graduação e pós-graduação da UFSC.

3.4 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA E PROCESSO DE AMOSTRAGEM

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado com base na fórmula proposta por Browner, Newman & Hulley (2008) para diferença de médias. Considerou-se o valor médio do Estado Antioxidante Total (TAS, do inglês *Total Antioxidant Status*) em indivíduos fisicamente ativos de 1,72 $\mu\text{mol trolox Equiv./L}$ e desvio padrão (DP) de 0,16 $\mu\text{mol trolox Equiv./L}$ (BOWTELL et al., 2011), considerando detectar uma diferença significativa de 9% após intervenção (média dos valores percentuais encontrados para a diferença nos estudos de Bowtell et al. (2011) e Howatson et al. (2010)). Utilizou-se um alfa de 0,05 (bicaudal) e um poder de estudo de 0,8. Assim, estimou-se uma amostra de 17 indivíduos e, adicionando 20% para possíveis perdas, o cálculo amostral final foi constituído de 20 indivíduos.

A amostragem foi intencional, de modo a atender os seguintes critérios de inclusão: sexo masculino; idade entre 19 e 30 anos; e fisicamente ativos. Os critérios de exclusão foram: indivíduos sedentários; tabagistas; portadores de quaisquer doenças, processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos; possuir lesões musculoesqueléticas nos últimos 3 meses; usuários de suplementos vitamínicos e minerais, recursos ergogênicos (carnitina, arginina, creatina e cafeína), esteróides anabolizantes ou medicamentos no mês anterior às intervenções.

Vinte e três indivíduos foram recrutados para participar da pesquisa. Ao longo do estudo, 08 indivíduos foram excluídos da pesquisa. Os motivos das perdas dos participantes durante o estudo estão representados no Quadro 2.

Quadro 2 – Motivos das perdas dos participantes durante o estudo.

Motivos	Nº de participantes
Torção de tornozelo em campeonato de rugby	1
Não comparecimento nos dias das intervenções	6
Êmese após a sessão de HIIT no dia que consumiu o suco de juçara	1
Total	08

3.4.1 Monitoramento do estado de saúde dos participantes

No mês anterior à primeira etapa do estudo foram realizados exames laboratoriais de controle, os quais possibilitaram maior rigor na avaliação dos participantes.

Após jejum de 8h foram coletadas amostras sanguíneas (8 mL) dos participantes por meio de punção da veia intermédia do antebraço, com sistema a vácuo (Vacuntainer-BD[®], São Paulo, Brasil) em tubos secos ou com ácido etileno-diaminoacético (EDTA) por um profissional da área da enfermagem.

Os parâmetros avaliados foram: ureia, creatinina e fosfatase alcalina por meio da técnica colorimétrica com reagentes Labtest[®] (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). As enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) por meio da técnica cinética com reagentes Labtest[®] (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). A glicemia de jejum foi avaliada pelo método glicose-oxidase segundo as instruções do fabricante Labtest[®] (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). O ácido úrico foi analisado pelo método de Trinder, de acordo com as instruções do fabricante Labtest[®] (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Todos os resultados foram expressos em mg/dL.

O perfil lipídico foi avaliado por meio das concentrações séricas de colesterol total (CT) e dos triglicerídeos (TG) por métodos automatizados e colorimétricos (Trinder) e o HDL-c foi determinado de acordo com as instruções do fabricante Labtest[®] (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). O LDL-c foi calculado pela equação de Friedewald [$LDL-c = CT - (HDL-c + TG/5)$] (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). O Não-HDL-c foi calculado pela diferença entre o CT e o HDL-c (Não-HDL-c = $CT - HDL-c$). Os resultados foram expressos em mg/dL.

Todos os exames acima citados foram analisados em espectrofotômetro automático Cobas Mira[®] - Roche (Basel, Canton, Suíça) e foram adotados valores de referência conforme as instruções de cada teste.

3.5 MODELO DE ANÁLISE

A intervenção com o suco de juçara representou a variável independente do estudo. As variáveis dependentes, marcadoras da atividade antioxidante e do estresse oxidativo, estão relacionadas na Tabela 2.

3.6 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS

3.6.1 Determinação do Nível de Atividade Física

Tabela 2 - Variáveis dependentes marcadoras da atividade antioxidante e estresse oxidativo.

Variáveis	Amostra	Unidade de medida
Fenóis Totais	Plasma	mg eqv. ácido gálico/L
Ácido Úrico	Soro	mg/dL
Capacidade Antioxidante Total (TAC)	Soro	mmol trolox eqv./L
Glutaciona Reduzida (GSH)	Sangue Total	μmol/g hemoglobina
Glutaciona Oxidada (GSSG)	Sangue Total	μmol/g hemoglobina
Glutaciona Peroxidase (GPX)	Hemolisado	mU/mg hemoglobina
Superóxido Dismutase (SOD)	Hemolisado	USOD/mg hemoglobina
Catalase (CAT)	Hemolisado	U/mg hemoglobina
Estado Oxidante Total (TOS)	Soro	μmol H ₂ O ₂ eqv./L
Proteínas Carboniladas	Plasma	nmol/mg de proteína

Para determinação do nível de atividade física foi utilizado Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ, do inglês *International Physical Activity Questionnaire*) na versão curta (ANEXO B), já validado em amostras da população brasileira (MATSUDO et al., 2001; MATSUDO et al., 2002). O questionário tem como referência a última semana, contendo perguntas em relação à frequência e duração de atividades físicas (moderadas, vigorosas e caminhadas). A classificação seguiu as Diretrizes para Processamento e Análise de Dados do IPAQ – Versão curta (ANEXO C) (IPAQ, 2004). Os indivíduos classificados com moderado ou alto nível de atividade física semanal foram incluídos no estudo.

3.6.2 Protocolo de Exercício

3.6.2.1 Teste incremental máximo

Na semana anterior à primeira intervenção, com o objetivo de familiarização e também para determinar a intensidade das sessões de HIIT, os participantes foram submetidos a um teste incremental máximo em cicloergômetro (*Excalibur Sport, Lode Medical Technology*®, Groningen, Holanda). O posicionamento do participante sobre o ciclo ergômetro foi ajustado previamente ao teste e anotado em ficha de controle para que a mesma fosse repetida nas subsequentes sessões de HIIT.

Durante a familiarização e aquecimento que antecederam o teste incremental, os indivíduos foram orientados a escolher uma cadência preferida (i. e. 80 a 100 rpm). O aquecimento teve duração de 3 min e

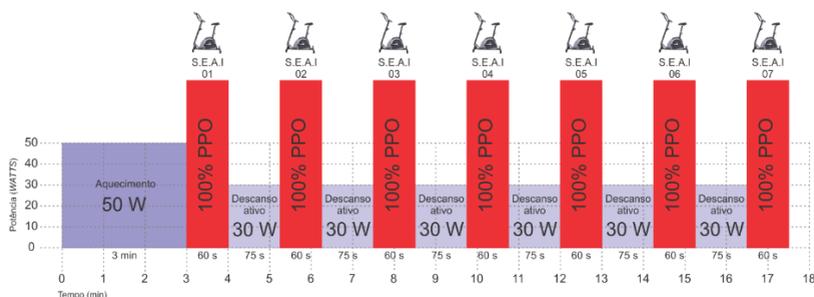
carga de 50 W. Em seguida foi dado início ao teste incremental em rampa com carga de trabalho inicial de 30 W com incrementos de 30 W/min até exaustão voluntária. O teste encerrava quando o indivíduo não conseguia sustentar a cadência pré-determinada. Os participantes receberam incentivo verbal durante os instantes finais do teste para garantir que fosse realizado esforço máximo. A potência pico obtida durante o teste incremental foi utilizada para determinar a intensidade das sessões de treinamento subsequentes. A frequência cardíaca foi monitorada durante todo o teste.

3.6.2.2 Sessão de exercício intervalado de alta intensidade

Sete dias após a realização do teste incremental máximo foi realizada a primeira sessão de HIIT. Da mesma maneira, a segunda sessão de HIIT foi realizada sete dias após a primeira. Em cada uma das sessões os participantes realizaram o mesmo protocolo de treinamento.

Inicialmente os participantes realizaram aquecimento específico de 3 min com carga de trabalho de 50 W, seguido por 7 séries de esforços de alta intensidade, as quais tiveram duração 60 s e carga de trabalho correspondente a 100% da potência pico obtida no teste incremental máximo. Entre as séries foi realizado intervalo de recuperação ativo com duração de 75 s e com intensidade de 30 W (SOUZA-SILVA et al., 2016) (Figura 5).

Figura 5 – Representação esquemática do protocolo de exercício. Inicialmente os participantes realizaram aquecimento de 3 min com carga de trabalho de 50 W, seguido por 7 séries de esforços de alta intensidade, as quais tiveram duração 60 s e carga de trabalho correspondente a 100% da potência pico obtida no teste incremental máximo. Entre as séries foi realizado intervalo de recuperação ativo com duração de 75 s e com intensidade de 30 W.



Legenda: S.E.A.I = Série de Esforço de Alta Intensidade
PPO = Potência Pico Obtida

3.6.3 Análises Bioquímicas

3.6.3.1 Coleta e preparo das amostras sanguíneas

Amostras sanguíneas (8 mL) dos participantes foram coletadas, em cada tempo avaliado, por meio de punção da veia intermédica do antebraço, com sistema a vácuo (Vacutainer-BD®, São Paulo, Brasil) em tubos secos ou com ácido etileno-diaminoacético (EDTA) por um profissional da área da enfermagem.

Para a avaliação da glutatona reduzida (GSH) o sangue foi coletado em tubos contendo 23 µL de EDTA tripotássio e 100 µL de N-Ethylmaleimide (NEM) 310 mM por mL de sangue. Misturou-se o sangue por inversões suaves durante 1 min (GIUSTARINI et al., 2013).

Para a determinação das enzimas antioxidantes glutatona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e hemoglobina foi preparado um hemolisado a partir de 100 µL de células (hemácias) juntamente com 1 mL de solução hemolisante (Solução de MgSO₄ 4 nM e Ácido Acético 1 nM).

Para obter o hemolisado, alíquotas de sangue total foram separadas em dois microtubos tipo *Eppendorf* (1 mL de sangue em cada tubo). Após centrifugação, 700 x g, por 10 min a 4 °C, o plasma foi transferido para outro microtubo para análises posteriores. As hemáceas foram utilizadas, após três lavagens com solução fisiológica (com centrifugação a 700 x g, 10 min a 4 °C, a cada lavagem). Após a última centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e foi complementado mesmo volume de solução fisiológica. Foi adicionado 1 mL de Solução Hemolisante a 100 µL destas células (hemácias e solução fisiológica). As amostras foram alocadas em freezer - 80 °C até o momento de sua utilização.

3.6.3.2 Fenóis totais

A concentração de fenóis totais no plasma foi medida por meio do método colorimétrico de *Folin-Ciocalteu*, conforme descrito por Serafini, Maiani e Ferro-Luzzi (1998). Em suma, 500 µL de amostras de plasma em duplicata foram acidificadas e, após a extração dos fenóis com mistura de álcool e hidróxido de sódio, as proteínas foram precipitadas, utilizando-se ácido tiobarbitúrico 20% e reextraídas com uma mistura de acetona/água (1/1). Em seguida, alíquotas (80 µL) de amostras foram adicionadas a 0,5 mL de reagente de *Folin-Ciocalteu* (50%). Após 5 min, 1 mL de bicarbonato de sódio a 5% foi adicionado. A mistura foi deixada

a temperatura ambiente, no escuro, por 1 h. A absorvância da amostra foi lida em espectrofotômetro automático UV-1800 - *Shimadzu*[®] (Kyoto, Japão) (765 nm) e o ácido gálico foi utilizado como padrão. Os resultados foram expressos em mg eqv. ácido gálico/L.

3.6.3.3 Ácido úrico

A concentração sérica de ácido úrico foi avaliada pelo método de Trinder, de acordo com as instruções do fabricante Labtest[®] (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Os resultados foram expressos em mg/dL.

3.6.3.4 Glutathiona reduzida (GSH)

A maior parte dos grupamentos tióis, ou sulfidrilas (SH) não proteicas é composta pela glutathiona reduzida (GSH). Após a coleta ou obtenção de sangue em EDTA, deve-se misturar imediatamente a amostra com NEM, pois os SH podem se oxidar. O uso de complexantes da GSH como NEM em sangue total serve para prevenir a oxidação da GSH a glutathiona oxidada (GSSG) (GIUSTARINI et al., 2013).

A GSH foi determinada no sangue total a partir do preparo dos reagentes: PB200 - Tampão Fosfato 0,2 M pH 7.4 - 50 mL, PB50 - Tampão Fosfato 0,05 M pH 7.4 - 40 mL, NEM 310, TCA 60%, TCA 15%, GSH 20 mM e GSH 2 mM. Para o preparo das fases móveis, a fase A foi composta de 1 litro de ácido acético 0,25% e a fase B por acetonitrila grau HPLC. Adicionou-se ao sangue tratado com NEM 310, volume igual de ácido tricloroacético (TCA) 15%. Agitou-se no vortex e centrifugou-se a 14000 g por 2 min a temperatura ambiente. Utilizou-se o sobrenadante límpido para a injeção na coluna-HPLC (*Shimadzu*[®], Tokyo, Japão). Condicionou-se a composição da fase móvel a 94% de fase A e 6% de fase B com taxa de fluxo de 1,25 mL por minuto. Foi realizada a análise no comprimento de onda a 265 nm com 400 nm como referência (GIUSTARINI et al., 2013). A concentração de GSH ($\mu\text{mol/L}$) foi calculada utilizando equação da reta com os valores da concentração e da absorvância da curva-padrão. A curva-padrão foi preparada com diferentes concentrações de GSH. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/g}$ de hemoglobina.

3.6.3.5 Glutathiona oxidada (GSSG)

A concentração de GSSG foi determinada no sangue total por método colorimétrico em espectrofotômetro automático UV-1800 - Shimadzu® (Kyoto, Japão), de acordo com a metodologia descrita por Giustarini et al. (2013). Alíquotas de sangue total tratadas com NEM 310 foram desproteinizadas e centrifugadas. O sobrenadante foi retirado e misturado com três volumes de diclorometano (DCM). Os tubos foram misturados vigorosamente em agitador tipo vortex por 5 min e centrifugados a 14000 x g por 30 s. Em seguida, em tubo de ensaio denominado branco, foram adicionados 20 µL de sobrenadante, 925 µL de PB 200 mM, 5 µL de ácido ditionitrobenzóico (DTNB), 20 µL de TCA 7,5% com EDTA e 20 µL de NADPH. A absorbância foi monitorada durante 1 min em 412 nm. A reação foi iniciada pela adição de 20 µL da enzima glutationa redutase (GR) 20 UI/mL, e a cinética da reação foi monitorada em 412 nm, durante 1 min, a temperatura ambiente. Ao final desse tempo, foi adicionado GSSG 10 µM e a absorbância da reação foi lida durante mais 1 min. Para os cálculos, foi utilizada a média de Δ Abs/min de duplicatas. A concentração de GSSG no sangue foi calculada conforme a equação: $GSSG_b = S \times [GSSG_c] / St \times 49,5 \times 2$, onde $S = \Delta$ amostra - Δ branco; $St = (\Delta$ amostra + Δ GSSG) - Δ amostra; 49,5 = fator de diluição da amostra na cubeta e; 2 = diluição devido à acidificação. Os resultados foram expressos em µmol/g de hemoglobina. A relação GSH:GSSG foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: $GSH (\mu\text{mol/g/hb}) / GSSG (\text{mmol/g/hb})$.

3.6.3.6 Capacidade Antioxidante Total (TAC do inglês *Total Antioxidant Capacity*)

A capacidade antioxidante total (TAC) no soro foi avaliada de acordo com o método descrito por Erel (2004). O método baseia-se na habilidade dos antioxidantes bloquearem (“*quench*”) o cátion radical estável ABTS (*2,2'-azinobis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic) diammonium salt*), um cromóforo azul-esverdeado com absorção máxima em 660 nm, em comparação com a capacidade antioxidante do Trolox, o análogo hidrofílico da vitamina E. A adição de antioxidantes ao cátion radical pré-formado reduz o radical a ABTS com consequente descoloração da solução. A solução de ABTS foi preparada em peróxido de hidrogênio 2:0 mmol em meio ácido. Após a adição de 5 µL da amostra ou de Trolox em 20 µL da solução de ABTS e 200 µL de tampão acetato 0,4 M, a absorbância foi medida imediatamente após a sua homogeneização em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*®),

Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®]. Os resultados foram expressos em mmol trolox eqv./L.

3.6.3.7 Estado Oxidante Total (TOS do inglês *Total Oxidant Status*)

Oxidantes presentes na amostra de soro agem sobre o complexo formado com o íon ferroso e a o-dianisidina para íon férrico. A reação é facilitada pelas moléculas de glicerol presentes em grande quantidade no meio reacional. O íon férrico forma um complexo colorido com o alaranjado de xilenol em meio ácido. A intensidade da cor é proporcional ao número total de moléculas presentes e pode ser lida em espectrofotômetro. O ensaio foi calibrado com peróxido de hidrogênio (EREL, 2005). A absorbância foi medida a 560 nm em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*[®], Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®] e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eqv./L.

3.6.3.8 Índice de Estresse Oxidativo (IEO)

A proporção TOS para TAC foi aceita como Índice de Estresse Oxidativo (IEO). Para os cálculos, o valor do IEO foi calculado de acordo com a seguinte fórmula: $\text{IEO (unidade arbitrária)} = \text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eqv./L}) / \text{TAC (mmol trolox eqv./L)}$ (CINGI YIRÜN et al., 2016).

3.6.3.9 Proteínas Carboniladas (PC)

A concentração plasmática de proteínas carboniladas foi determinada por meio de método colorimétrico, conforme descrito por Levine et al (1990). O método baseia-se na reação do grupo carbonil presente na proteína oxidada, com 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH), formando um complexo (proteína-hidrazona). Em um microtubo contendo uma alíquota de 100 μL de plasma, foram adicionados 600 μL de DNPH diluído em HCl 2 M ou 600 μL de HCl 2 M (branco da amostra). A mistura foi incubada por 1 h, no escuro, com agitação a cada 10 min. Posteriormente foram adicionados 600 μL de TCA 20% e a mistura foi centrifugada (11000 x g, por 5 min, a 4 °C). O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi lavado, por três vezes, com 800 μL de etanol-etilacetato (1:1) e centrifugado por 10 min (15000 x g, a 4 °C). Em seguida, o *pellet* foi descartado e 900 μL de ureia 8 M, dissolvida em tampão de KH_2PO_4 20

mM (fosfato de potássio) com pH 2.3, foram adicionados ao precipitado. A mistura foi incubada em banho-maria por 30 min, a 60 °C e, depois, centrifugada por 10 min a 14000 x g, 4 °C. A absorbância da amostra foi lida em espectrofotômetro automático UV-1800 - *Shimadzu*[®] (Kyoto, Japão) (360 nm) e a albumina sérica bovina (BSA) foi utilizada como padrão. O conteúdo de grupos carbonil foi determinado, usando-se o coeficiente de absorvidade molar de 22.000 M.L⁻¹.cm⁻¹. Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteína.

3.6.3.10 Glutationa peroxidase (GPx)

A GPx atua sobre vários substratos, como os hidroperóxidos orgânicos. A GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com GSH para formar GSSG e o produto de redução do hidroperóxido. Fisiologicamente a GPx atua acoplada à enzima glutationa redutase (GR) que, por sua vez, catalisa a redução de GSSG, usando NADPH como coenzima. A atividade da GPx pode ser medida pela taxa de oxidação de NADPH na presença de GSH e GR. A azida sódica (N₃Na) é adicionada para inibir a ação da catalase (WENDEL, 1981). Foram utilizados os seguintes reagentes: tampão fosfato 143 mM pH 7.5 EDTA 1 mM, NADPH 0,29 mM, N₃Na 100 mM, GSH 20 mM, GR 10 U/mL, t-butil-hidroperóxido 10 mM, cianeto de potássio (KCN) 9 mM. Por fim, 5 µL de amostra foram adicionados e a absorbância foi medida imediatamente em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*[®], Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®], a 340 nm. Os resultados foram expressos em mU/mg hemoglobina.

3.6.3.11 Superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi mensurada com um kit de ensaio de SOD *Sigma-Aldrich*[®] (Saint Louis, Missouri, EUA) que segue a metodologia de Peskin e Winterbourn (2000), a qual mede a interação do ânion superóxido com o sal de formazano WST-1 (*Water Soluble Tetrazólium-1*), sendo este convertido em *WST-formazan* e lido a 450 nm. A absorbância foi medida em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*[®], Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®], a 450 nm. Os resultados foram expressos em USOD/mg hemoglobina.

3.6.3.12 Catalase (CAT)

A atividade da CAT é diretamente proporcional à decomposição de H_2O_2 e baseia-se na medida da velocidade de consumo deste na amostra estudada. A determinação da catalase foi realizada por meio de sua função peroxidativa. O método baseia-se na reação da enzima com metanol em presença de uma concentração ideal de H_2O_2 . Nessa reação é produzido formaldeído, o qual será medido colorimetricamente com Purpald. O reagente Purpald forma um heterociclo bicíclico com aldeídos que, ao oxidar, passa a ter cor roxa (JOHANSSON; BORG, 1988). A absorbância foi medida em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*®, Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®], a 540 nm. Os resultados foram expressos em U/mg hemoglobina.

3.6.3.13 Hemoglobina

A hemoglobina foi utilizada para expressar os resultados das enzimas e foi avaliada por meio da técnica colorimétrica, em espectrofotômetro automático UV-1800 - *Shimadzu*® (Kyoto, Japão) com reagentes Labtest® (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Os resultados foram expressos em mg/dL.

3.6.4 Avaliação do Estado Nutricional e Composição Corporal

Para a aferição do peso foi utilizada a balança digital Welmy® (São Paulo, Brasil) com resolução de 0,001 g. A estatura foi aferida em estadiômetro Altura Exata® (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) com resolução de 1 mm. As medidas de peso e estatura foram utilizadas para o cálculo do índice de massa corporal (IMC), onde o peso, expresso em quilogramas (kg), é dividido pela estatura ao quadrado em metros. O IMC foi utilizado como indicador do estado nutricional, utilizando-se como parâmetro a classificação da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2006).

A avaliação da composição corporal foi realizada por meio da densitometria computadorizada por absorciometria radiológica de dupla energia (DXA). O modelo utilizado neste estudo foi o *Lunar Prodigy Advance General Electric-GE*® (Diegem, Bélgica).

3.6.5 Avaliação da Capacidade Antioxidante Total da Dieta (CATd)

A avaliação da CATd foi realizada por meio do registro alimentar. Os participantes realizaram três registros alimentares na semana anterior ao teste de familiarização com o cicloergômetro, sendo dois dias de semana não consecutivos e um dia de final de semana, para estabelecer o consumo médio habitual de cada indivíduo. O pesquisador treinado solicitou para os participantes registrarem todos os alimentos, preparações e bebidas, assim como as quantidades em medidas caseiras consumidas, com auxílio de álbum fotográfico de medidas caseiras, favorecendo a precisão das informações (ZABOTTO, 1996). As informações registradas pelos participantes em medidas caseiras foram padronizadas e transformadas em gramas e/ ou mililitros de alimentos e/ ou bebidas com auxílio de tabela para conversão de medidas caseiras (PINHEIRO et al., 2005). A partir das informações de ingestão alimentar, o valor da CATd foi calculado por meio da soma dos valores da capacidade antioxidante total de cada alimento. Os dados da capacidade antioxidante total dos alimentos foram compilados de tabelas que utilizaram a técnica do poder antioxidante redutor férrico (*Ferric Reducing Antioxidant Power* - FRAP) dos alimentos (CARLSEN et al., 2010) e foram expressos como capacidade antioxidante total da dieta em mmol/100 g de alimentos (PUCHAU et al., 2009). Para os casos de alimentos não disponíveis, foram utilizados os dados de um item alimentar semelhante (por exemplo, o mesmo grupo botânico). Os valores dos alimentos frescos foram utilizados para calcular os valores dos alimentos cozidos quando estes não estavam disponíveis nas tabelas.

3.7 TRATAMENTO E ANÁLISE DE DADOS

Os dados quantitativos (absolutos ou variação percentual, % Δ) foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e quando necessário, a transformação logarítmica dos dados foi realizada. Os dados foram descritos como média e desvio padrão ou erro padrão médio; ou mediana e intervalo interquartil. Eventuais diferenças promovidas pelos dois tratamentos (suco de juçara ou controle) bem como nos diferentes tempos analisados foram detectadas pela análise de variância para medidas repetidas de duas vias (*two-way* RM-ANOVA). O pós-teste de Tukey para comparações múltiplas foi empregado para identificação das diferenças específicas entre as variáveis. Se nenhum efeito significativo foi observado, realizou-se o cálculo de mudança relativa por meio da fórmula: % Δ = ((valor final – valor inicial)/ valor inicial) X 100). Para análise das mudanças percentuais antes e após as intervenções entre as médias de GJ e GC foram realizados os testes *t* de Student ou Mann-

Whitney, conforme simetria dos dados. Realizou-se também o teste t pareado ou de Wilcoxon para verificar a diferença entre os tempos de cada variável em cada intervenção. Foram estabelecidas correlações de Pearson ou Spearman para avaliar a relação entre os marcadores. Para a interpretação da magnitude das correlações foi adotada a seguinte classificação dos coeficientes de correlação: coeficientes de correlação $< 0,4$ (correlação de fraca magnitude), $\geq 0,4$ a $< 0,5$ (de moderada magnitude) e $\geq 0,5$ (de forte magnitude) (HULLEY et al., 2003). Os dados foram analisados no *software* estatístico *Stata*[®] versão 11.0. Foi considerado um nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$).

CAPÍTULO 4 - ARTIGO ORIGINAL

EFEITO DO CONSUMO AGUDO DO SUCO DE JUÇARA (*Euterpe edulis* Martius) SOBRE BIOMARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO ANTES E APÓS UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO INTERVALADO DE ALTA INTENSIDADE: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO E *CROSS-OVER*

RESUMO

Nos últimos anos, a suplementação de antioxidantes tem recebido notável atenção pela sua influência na recuperação após o exercício, reduzindo o estresse oxidativo. Estudos sugerem que o consumo de alimentos ricos em antocianinas, como o fruto juçara (*Euterpe edulis* Martius) pode oferecer proteção antioxidante no exercício, independentemente da duração da intervenção. Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito do consumo agudo do suco de juçara sobre biomarcadores do estresse oxidativo antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade. Em um delineamento *cross-over* e randomizado, 15 homens fisicamente ativos foram designados para consumir, 1h antes do exercício, 250 mL de suco de juçara ou água (controle). Amostras sanguíneas foram obtidas 1h antes do exercício (antes da ingestão do suco de juçara ou controle), imediatamente após o exercício e 1h após o exercício. Os parâmetros avaliados foram: fenóis totais, ácido úrico, glutathiona reduzida (GSH), glutathiona oxidada (GSSG), relação GSH:GSSG, capacidade antioxidante total (TAC, do inglês *Total Antioxidant Capacity*), estado oxidante total (TOS, do inglês *Total Oxidant Status*), índice de estresse oxidativo (IEO), proteínas carboniladas (PC) e as enzimas: glutathiona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Análises de variância para medidas repetidas de duas vias denotaram aumento significativo do tempo nos desfechos: fenóis totais ($p < 0,001$), ácido úrico ($p < 0,001$), TAC ($p < 0,001$) e GPx ($p = 0,03$), bem como diminuição ao longo do tempo de TOS ($p = 0,01$) e IEO ($p < 0,001$) independente do tratamento (suco de juçara ou controle). Considerando que não foi observado efeito do tratamento, realizou-se a análise das mudanças relativas (%). A partir das mudanças relativas médias, foi observado que o suco de juçara diminuiu (-1,2%) o parâmetro IEO imediatamente após o exercício ($p = 0,03$) e aumentou os parâmetros GSH (37%; $p = 0,03$) e a relação GSH:GSSG (8%; $p = 0,03$) 1h após o exercício comparado ao grupo controle. Ainda, observou-se que a ingestão do suco de juçara aumentou 3%

imediatamente após o exercício e 9% 1h após o exercício as concentrações de fenóis totais ($p = 0,02$) e 2% imediatamente após o exercício e 55% 1h após o exercício as concentrações de ácido úrico ($p < 0,001$). Em conclusão, o suco de juçara diminuiu o parâmetro IEO imediatamente após o exercício e aumentou os parâmetros GSH e a relação GSH:GSSG 1h após o exercício em relação ao grupo controle, indicando que o consumo do suco de juçara pode contribuir para as respostas antioxidantes e, possivelmente, na recuperação do exercício. No entanto, indivíduos fisicamente ativos que desejam consumir o suco de juçara com a finalidade de recuperação durante a intensificação dos períodos de treinamento, precisam equilibrar o objetivo de promover a recuperação das sessões de treinamento com a atenuação da sinalização redox, necessária às adaptações fisiológicas induzidas pelo exercício. Futuras pesquisas devem examinar o uso do suco de juçara por um maior período de intervenção, em diferentes doses e em outras condições de exercício, a fim de investigar possíveis alterações nestes e em outros parâmetros bioquímicos, fisiológicos, bem como avaliar a recuperação e desempenho do exercício.

Palavras-chaves: fruto juçara, *Euterpe edulis*, antocianinas, antioxidantes, exercício, estresse oxidativo.

ABSTRACT

In the past few years, antioxidant supplementation has been the focus of attention in recovery exercise, thus leading to a reduction in oxidative stress. Studies suggest that the consumption of foods rich in anthocyanins, such as juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius), may provide antioxidant protection during exercise, regardless the duration of intervention. The purpose of this study was to evaluate the acute consumption of juçara juice in oxidative stress biomarkers before and after a high-intensity interval training session. In a randomized, cross-over design, fifteen physically active men were assigned to drink 250 mL of juçara juice or water (control) 1 h before exercise. Blood samples were obtained 1 h prior to exercise (before the juçara juice or water intake), immediately post exercise, and 1 h post exercise. The parameters evaluated were: total phenols, uric acid, reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), GSH:GSSG ratio, total antioxidant capacity (TAC), total oxidant status (TOS), oxidative stress index (OSI), protein carbonyls (PC) and enzymes: glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT). Analyses of variance for repeated measures (two-way) denoted a significant increase of time on outcomes: total phenols ($p < 0,001$), uric acid ($p < 0,001$), TAC ($p < 0,001$) and GPx ($p = 0,03$), as well as a decrease over time of TOS ($p = 0,01$) and OSI ($p < 0,001$), regardless of treatment (juçara juice or control). Considering that no treatment effect was observed, the relative changes (%) were analyzed. From the relative average changes, it was possible to observe a decrease (-1,2%) in OSI parameter immediately post exercise ($p = 0,03$) and an increase in the GSH (37%; $p = 0,03$) and GSH:GSSG ratio (8%; $p = 0,03$) parameters 1 h post exercise of juçara juice intake in relation to the control group. Moreover, an increase in total phenols of 3% immediately post exercise and 9% 1 h post exercise ($p = 0,02$) and 2% immediately post exercise and 55% 1 h post exercise ($p < 0,001$) in uric acid of juçara juice intake was observed. In conclusion, the juçara juice decreased the IEO parameter immediately post exercise and increased the GSH and GSH:GSSG ratio parameters 1 h post exercise in relation to the control group, indicating that the juçara juice intake may contribute to the antioxidant responses and, possibly, to the recovery of the exercise. However, physically active individuals who wish to consume juçara juice for the purpose of recovery during intensifying training periods, need to balance the goal of promoting the recovery of training sessions with the attenuation of exercise-induced redox signaling, required for physiological adaptations to exercise. Future researches should assess the

consumption of juçara juice for a longer period of intervention, in different doses and in other conditions of exercise in order to investigate changes in them. They should also make use of other biochemical and physiological parameters, as well as perform an evaluation on exercise recovery and performance.

Keywords: juçara fruit, *Euterpe edulis*, anthocyanins, antioxidants, exercise, oxidative stress.

Introdução

Nos últimos anos, a suplementação de antioxidantes tem recebido notável atenção pela sua influência na recuperação após o exercício, reduzindo o estresse oxidativo⁽¹⁻³⁾.

O treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês *high-intensity interval training*) pode causar estresse oxidativo devido ao incremento no metabolismo energético e o consequente aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), bem como da exigência do sistema de defesa antioxidante^(4, 5).

Os efeitos da suplementação de antioxidantes no treinamento físico podem ser paradoxais, dependendo da dosagem, da duração da intervenção (aguda ou crônica) e do tipo de antioxidante administrado. Na última década, tem sido sugerido que a administração crônica de doses elevadas de antioxidantes antes do exercício pode atenuar vias de sinalização mediadas por EROs, necessárias a adaptações celulares favoráveis ao desempenho e à saúde. Assim sendo, as adaptações desejáveis ao treinamento podem ser prejudicadas se as concentrações fisiológicas de EROs forem reduzidas, devido a uma inapropriada suplementação com antioxidantes^(6,7).

As interferências negativas da suplementação de antioxidantes em sinalizações e respostas adaptativas ao treinamento têm sido observadas com administração de compostos bioativos isolados (i. e. vitamina E, vitamina C, ácido lipóico, resveratrol)^(6,7), porém, não há evidências dessas associações com a utilização de alimentos/ extratos naturalmente ricos em antioxidantes^(8,9). Estes podem oferecer uma gama de fitonutrientes que conferem benefícios ao desempenho⁽¹⁰⁾. Além disso, estudos sugerem que o consumo de alimentos ricos em polifenóis, particularmente em antocianinas, pode oferecer proteção antioxidante no exercício, independentemente da duração da intervenção^(11, 12). Portanto, a administração aguda de um alimento rico em antocianinas poderia ser

benéfica, por exemplo, antes de uma sessão de exercício de alta intensidade, quando há um provável aumento da formação de EROs associado ao esforço exaustivo.

Devido à similaridade na composição química com os frutos de açai (*Euterpe oleracea*), o fruto juçara (*Euterpe edulis*) vem sendo estudado nos últimos anos^(13, 14). O fruto juçara é um alimento altamente nutritivo que pode proporcionar benefícios à saúde, em parte, devido à sua elevada atividade antioxidante, conferida principalmente pela presença antocianinas^(15, 16). As antocianinas são pigmentos encontrados em vegetais que apresentam cores que variam do vermelho intenso ao violeta e azul⁽¹⁷⁾ - coloração encontrada no fruto juçara. Diversos estudos^(16, 18, 19, 20) sobre os efeitos do consumo de sucos, polpas ou frutos ricos em antocianinas, avaliados por meio de intervenções agudas ou prolongadas, têm mostrado resultados positivos, como, por exemplo, o aumento da atividade antioxidante. Portanto, a administração aguda de um alimento rico em antocianinas, como o fruto juçara, poderia ser benéfica, por exemplo, antes de uma sessão de exercício de alta intensidade, quando há um provável aumento da formação de EROs associado ao esforço exaustivo. Assim, hipotetiza-se que o uso fruto juçara na alimentação de indivíduos praticantes de HIIT possa contribuir para o aumento da atividade antioxidante e, possivelmente, atenuar o estresse oxidativo gerado pelo exercício, favorecendo a recuperação pós-exercício. Destaca-se ainda que, até o presente momento, não foram encontrados estudos na literatura referentes ao consumo do fruto juçara antes e após o exercício em humanos. Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito do consumo agudo do suco de juçara (*Euterpe edulis* Martius) sobre biomarcadores do estresse oxidativo antes e após uma sessão de HIIT em indivíduos fisicamente ativos.

Métodos

Sujeitos

Inicialmente, 23 indivíduos saudáveis e fisicamente ativos do sexo masculino foram recrutados para participar da pesquisa de acordo com os seguintes critérios de inclusão: sexo masculino; idade entre 19 e 30 anos; e fisicamente ativos. Os critérios de exclusão foram: indivíduos sedentários; tabagistas; portadores de quaisquer doenças, processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos; possuir lesões musculoesqueléticas nos últimos 3 meses e usuários de suplementos vitamínicos e minerais, recursos ergogênicos (carnitina, arginina, creatina

e cafeína), esteróides anabolizantes ou medicamentos no mês anterior às intervenções. Ao longo do estudo, 8 indivíduos foram excluídos da pesquisa pelos seguintes motivos: torção de tornozelo em campeonato de rugby (1), êmese após a sessão de HIIT no dia do consumo do suco de juçara (1) e motivos pessoais não reportados (6). Desta maneira, 15 indivíduos concluíram todas as etapas do estudo e foram incluídos nas análises.

Os participantes responderam a um questionário de inclusão elaborado pelos pesquisadores para auxiliar na triagem à pesquisa. Ainda, no mês anterior à primeira etapa do estudo foram realizados exames laboratoriais de controle, os quais possibilitaram maior rigor na avaliação dos participantes. Os exames realizados foram: glicemia de jejum, colesterol total, HDL-c, LDL-c, Não HDL-c, triglicerídeos, ácido úrico, ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (dados não mostrados) e todos os resultados estavam de acordo com os valores de referência.

Todos os indivíduos receberam as explicações necessárias para o entendimento do protocolo experimental utilizado, bem como riscos e benefícios. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina (número: 71111617.2.0000.0121) antes do início do estudo e os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. A Tabela 1 descreve as características dos participantes do estudo.

Delineamento experimental

Este estudo caracterizou-se como um ensaio clínico randomizado, *cross-over* e único com intervenção alimentar única. Os participantes foram randomizados em dois grupos: Grupo Juçara (GJ) e Grupo Controle (GC).

O estudo foi dividido em três etapas (separadas por 7 dias de intervalo). Na primeira foi realizada familiarização e o teste incremental máximo no cicloergômetro para determinar a intensidade adotada nas sessões de HIIT. Nas duas etapas subsequentes (separadas por um período *washout*) foram realizadas as sessões de HIIT com um desenho idêntico, apenas com exceção do consumo prévio de 250 mL de suco de juçara ou água (controle). Duas horas antes do HIIT os indivíduos realizaram um café da manhã padronizado, constituído de torradas e leite desnatado (240 kcal, 70% de carboidratos, 16% de proteínas e 14% de lipídeos), adaptado de Panza et al.⁽²¹⁾. Uma hora antes do HIIT, os indivíduos receberam a in-

Tabela 1 – Características dos participantes do estudo (n = 15).

Variáveis	Média/ Mediana	EPM/ IQ
Idade (anos)	25,08	0,63
Estatura (m)	1,79	0,01
Peso (kg)	76,76	2,65
IMC (kg/m ²)	23,83	0,67
Percentual de gordura (%)	17,40	1,35
Peso gordo (kg)	12,99	1,12
Peso magro (kg)	57,49	54,91 – 70,32
Densidade Mineral Óssea (g/cm ²)	1,23	0,03
Tempo de atividade física (min/dia)	71,00	5,53
Nível de atividade física semanal (MET-min/semana)	4.206,93	625,57
Potência (W) no Teste Incremental	319,07	12,07
Frequência Cardíaca Máxima no Teste Incremental	198,00	191,00 – 206,00
Capacidade Antioxidante da Dieta Habitual (mmol/100 g de alimentos)	19,08	2,15

EPM: Erro padrão médio; IQ: Intervalo interquartil.

tervenção (i.e. suco de juçara ou água). As coletas sanguíneas foram realizadas em três momentos, 1h antes (antes do consumo do suco de juçara ou água), imediatamente após e 1h após o término da sessão de HIIT. A Figura 1 mostra o desenho do estudo.

Restrições Dietéticas e de Exercício

Para padronizar e limitar a ingestão de antioxidantes durante o estudo, os participantes receberam orientações verbais e por escrito para evitarem o consumo de alimentos ricos em antioxidantes nas 48h prévias a cada intervenção. Os participantes receberam uma lista de alimentos divididos em três categorias: alimentos permitidos, alimentos permitidos com restrições e alimentos não permitidos⁽²²⁾. Foram orientados por profissional nutricionista a preencherem dois registros alimentares (RA) referentes às 48h precedentes a cada intervenção, para avaliar o seguimento das orientações fornecidas. Para preenchimento dos RA os participantes receberam orientações verbais, por escrito e formulário os quais solicitaram informações a respeito do tipo de refeição consumida, horários, tipo de alimentos e quantidades ingeridas. Medidas caseiras pa-

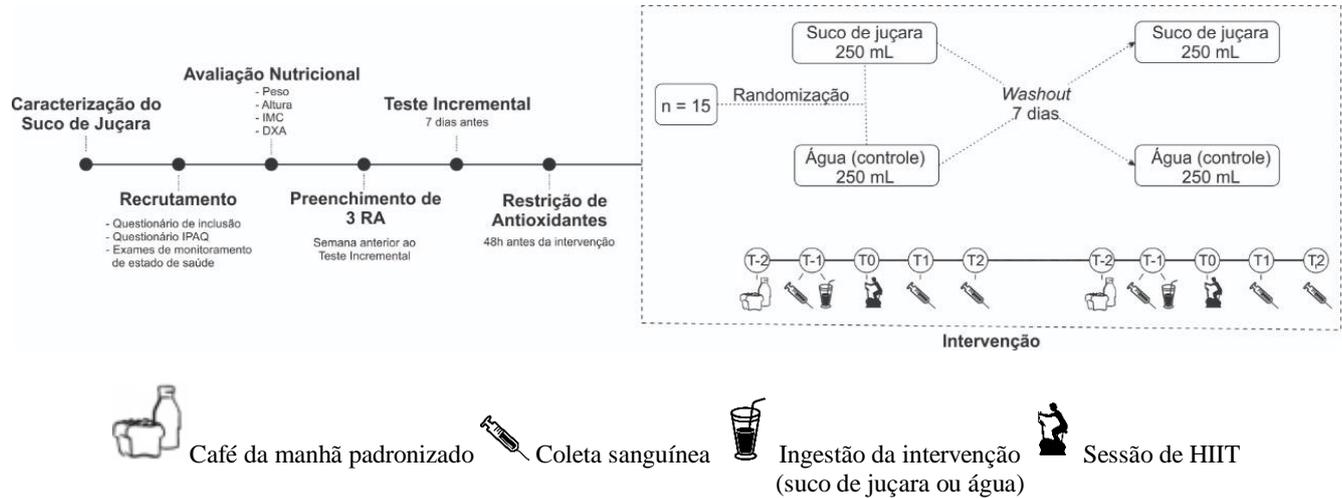


Figura 1 – Desenho do estudo. Inicialmente foi realizada a caracterização das amostras do suco de juçara oferecido aos participantes do estudo. Em seguida realizou-se o recrutamento e avaliação nutricional dos participantes do estudo. Na semana anterior ao teste incremental os participantes realizaram preenchimento de 3 registros alimentares (RA) para avaliação da capacidade antioxidante total da dieta habitual. O teste incremental foi realizado 7 dias antes das intervenções e nas 48h anteriores às intervenções os participantes foram orientados a restringirem o consumo de alimentos ricos em antioxidantes. Os participantes do estudo (n = 15) foram randomizados para receberem 250 mL de suco de juçara ou água (controle). Nos dias de exercício os participantes realizaram café da manhã padronizado 2h antes do início da sessão de HIIT (T-2). A ingestão da intervenção (suco de juçara ou água) ocorreu 1h antes do início da sessão de HIIT (T-1) e a sessão de HIIT durou aproximadamente 17 min (T0). A coletas sanguíneas foram realizadas 1h antes do início da sessão de HIIT (T-1); imediatamente após o término da sessão de HIIT (T1) e 1h após o término da sessão de HIIT (T2). Após um *washout* de 7 dias da primeira intervenção os tratamentos foram invertidos.

drões foram apresentadas e explicadas aos participantes, bem como o tamanho das porções com auxílio de álbum fotográfico, favorecendo a precisão das informações⁽²³⁾. As informações registradas pelos participantes em medidas caseiras foram padronizadas e transformadas em gramas e/ ou mililitros de alimentos e/ ou bebidas com auxílio de tabela para conversão de medidas caseiras⁽²⁴⁾. Além disso, neste mesmo período, foram orientados a não praticarem exercício físico intenso.

Caracterização dos participantes do estudo

Para a aferição do peso foi utilizada a balança digital Welmy® (São Paulo, Brasil) com resolução de 0,001 g. A estatura foi aferida em estadiômetro Altura Exata® (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) com resolução de 1 mm. As medidas de peso e estatura foram utilizadas para o cálculo do índice de massa corporal (IMC), onde o peso, expresso em quilogramas (kg), é dividido pela estatura ao quadrado em metros. O IMC foi utilizado como indicador do estado nutricional, utilizando-se como parâmetro a classificação da Organização Mundial da Saúde⁽²⁵⁾.

A avaliação da composição corporal foi realizada por meio da densitometria computadorizada por absorciometria radiológica de dupla energia (DXA). O modelo utilizado neste estudo foi o *Lunar Prodigy Advance General Electric-GE*® (Diegem, Bélgica).

Para determinação do nível de atividade física foi utilizado o Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ, do inglês *International Physical Activity Questionnaire*) na versão curta. A classificação seguiu as Diretrizes para Processamento e Análise de Dados do IPAQ – Versão curta⁽²⁶⁾.

A avaliação da capacidade antioxidante total da dieta (CATd) foi realizada por meio do registro alimentar. Os participantes realizaram três registros alimentares na semana anterior ao teste de familiarização com o cicloergômetro, sendo dois dias de semana não consecutivos e um dia de final de semana, para estabelecer o consumo médio habitual de cada indivíduo. O pesquisador treinado solicitou para os participantes registrarem todos os alimentos, preparações e bebidas, assim como as quantidades em medidas caseiras consumidas, com auxílio de álbum fotográfico de medidas caseiras, auxiliando na precisão das informações⁽²³⁾. As informações registradas pelos participantes em medidas caseiras foram padronizadas e transformadas em gramas e/ ou mililitros de alimentos e/ ou bebidas com auxílio de tabela para conversão de medidas caseiras⁽²⁴⁾. A partir das informações de ingestão alimentar, o valor da CATd foi calculado por meio da soma dos valores da capacidade

antioxidante total de cada alimento. Os dados da capacidade antioxidante total dos alimentos foram compilados de tabelas que utilizaram a técnica do poder antioxidante redutor férrico (*Ferric Reducing Antioxidant Power* - FRAP) dos alimentos⁽²⁷⁾ e foram expressos como capacidade antioxidante total da dieta em mmol/100 g de alimentos⁽²⁸⁾. Para os casos de alimentos não disponíveis, foram utilizados os dados de um item alimentar semelhante (por exemplo, o mesmo grupo botânico). Os valores dos alimentos frescos foram utilizados para calcular os valores dos alimentos cozidos quando estes não estavam disponíveis nas tabelas.

Caracterização química e da atividade antioxidante do suco de juçara

Todos os reagentes utilizados possuíam pureza analítica. Metanol, acetona, ácido cítrico, ácido gálico, acetato de sódio, ácido clorídrico (37 % m/m), reativo *Folin-Ciocalteu*, 2,2-difenil-1-picrildrazil (DPPH) e 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) foram obtidos da *Sigma Aldrich*[®] (St. Louis, EUA). Ácido bórico, ácido sulfúrico, cloreto de potássio, cloreto férrico, carbonato de sódio, éter de petróleo, hidróxido de sódio, sulfato ferroso e ácido ascórbico foram adquiridos da Vetec[®] (Duque de Caxias, RJ, Brasil).

As metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemicals*⁽²⁹⁾ foram adotadas para a determinação do conteúdo de matéria seca, cinzas, proteína, lipídeos e acidez. A matéria seca foi determinada por secagem em estufa a 105 ± 5 °C até peso constante e o conteúdo de cinzas por incineração em mufla (AOAC, 940.26). Os lipídeos totais (extrato etéreo) foram determinados pelo método de extração Soxhlet (AOAC, 933.05) e o teor de proteínas pelo método Kjeldahl (AOAC, 920.152). A acidez titulável foi determinada titulando-se as amostras com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de hidróxido de sódio (método 942.15).

O preparo dos extratos para quantificação dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foi realizado com base na metodologia proposta por Rufino e colaboradores⁽³⁰⁾, no qual 2 mL de cada amostra foram extraídos com 10 mL de metanol em ultrassom a 25 ± 2 °C por 60 minutos USC-1400 (Unique[®], São Paulo, Brasil). Os extratos foram centrifugados a 5300/g por 15 minutos (Fanem[®] 280R, São Paulo, Brasil). Em seguida, coletou-se o sobrenadante e o resíduo centrifugado foi submetido a um novo processo de extração com 5 mL de acetona 70:30 (v/v) nas mesmas condições citadas acima. O novo sobrenadante extraído foi adicionado ao sobrenadante da primeira extração e o volume foi completado para 25 mL em balão volumétrico com água desionizada.

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos foi determinado pelo método espectrofotométrico com reativo de *Folin-Ciocalteu*⁽³¹⁾. Em balões volumétricos de 10 mL, foram adicionados 4 mL de água desionizada e 100 µL dos extratos, seguido da adição de 0,5 mL do reagente *Folin-Ciocalteu*, e 1,5 mL de solução de carbonato de sódio 20 % m/v. O volume foi ajustado para 10 mL com água desionizada e o conteúdo homogeneizado. Após 2 horas ao abrigo da luz, foi realizada a leitura da absorbância em 765 nm utilizando espectrofotômetro *Spectro Vision*[®], modelo SB1810-S (Beijing, China). Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico em 100 e 250 mL de suco.

As antocianinas monoméricas totais (AMT) dos extratos das amostras foram mensuradas aplicando o método diferencial de pH proposto por Giusti e Wrolstad⁽³²⁾, onde alíquotas de 0,2 mL dos extratos diluídos foram adicionadas de 1,8 mL de solução tampão cloreto de potássio 0,025M (pH 1.0) e acetato de sódio 0,4M (pH 4.5), separadamente, com absorbâncias medidas após 10 minutos em ausência de luz nos comprimentos de onda 515 e 700 nm. O conteúdo de AMT foi calculado por meio da equação:

$$AMT = \frac{A \times MM \times FD \times 100}{\epsilon \times C}$$

Onde A = absorbância ($A_{515} - A_{700}$) pH 1.0 - ($A_{515} - A_{700}$) pH 4,5; MM = massa molecular da cianidina 3-glicosídeo ($449,2 \text{ g mol}^{-1}$); FD = fator de diluição; ϵ = absorvividade molar de cianidina 3-glicosídeo (26900 mol L^{-1}); e C = concentração (mg mL^{-1}). O conteúdo total de antocianinas monoméricas foi expresso em mg equivalentes de cianidina-3- glicosídeo em 100 e 250 mL de suco.

A capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada por meio da ação de desativação do radical DPPH por antioxidantes presentes nos extratos e realizada conforme descrito por Brand Williams, Cuvelier e Berset⁽³³⁾. O percentual de inibição do radical foi medido através da leitura de absorbância a 515 nm antes (A_0) e após (A_f) a adição de 100 µL do extrato diluído em 2,9 mL do radical DPPH 0,1 mM em metanol 80% com tempo de reação fixado em 30 minutos ao abrigo da luz em temperatura ambiente. A percentagem (%) de inibição de radicais DPPH foi dada pela seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{absorbância da amostra } t=30\text{min}}{\text{absorbância do controle } t=0\text{min}} \times 100$$

Curvas padrão foram utilizadas e os resultados foram expressos em mg equivalente a ácido ascórbico e μmol Trolox em 100 e 250 mL de suco.

A capacidade antioxidante pelo potencial redutor férrico (FRAP, do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi avaliada pelo método descrito por Benzie e Strain⁽³⁴⁾. Alíquotas de 200 μL dos extratos diluídos foram adicionadas a 200 μL de cloreto férrico FeCl_3 , homogêneos e acondicionados em banho de água por 30 minutos a 37 ± 2 °C. Em seguida, 3,6 mL da solução de TPTZ (2,4,6-tripiridyl-s-triazine) foram adicionados aos tubos e novamente homogêneos. Após 10 minutos de repouso a absorbância foi mensurada em 620 nm. Os resultados foram expressos em mg equivalente a ácido ascórbico e μmol sulfato ferroso em 100 e 250 mL de suco. A Tabela 2 mostra a composição e propriedades antioxidantes do suco de juçara.

Tabela 2 – Composição e propriedades antioxidantes do suco de juçara.

Parâmetros Avaliados	100 mL		250 mL	
	Média	DP	Média	DP
Matéria Seca (g)	3,07	0,10	7,67	0,24
Umidade (g)	96,93	0,10	242,34	0,24
Cinzas (mg)	96,00	7,00	240,00	17,50
Acidez titulável (mL de NaOH 1N)	64,00	82,00	160,00	205,00
Proteínas (g)	0,29	0,00	0,73	0,01
Lipídeos (Extrato etéreo) (g)	1,10	0,01	2,75	0,03
Fenólicos totais (mg EAG)	140,00	7,00	350,00	17,5
Antocianinas monoméricas totais (mg cianidina 3-glicosídeo)	74,00	3,00	185,00	7,50
DPPH (mg EAA)	153,00	4,00	390,00	10,00
DPPH (μmol Trolox)	1.236,00	29,00	3.090,00	72,50
FRAP (μmol EAA)	453,00	28,00	1.132,50	70,00
FRAP (μmol sulfato ferroso)	1.197,00	63,00	2.992,50	157,50

DP: Desvio-padrão; DPPH: radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; FRAP: *Ferric Reducing Antioxidant Power*, poder antioxidante redutor férrico; EAG: Equivalente de ácido gálico; EAA: Equivalente de ácido ascórbico.

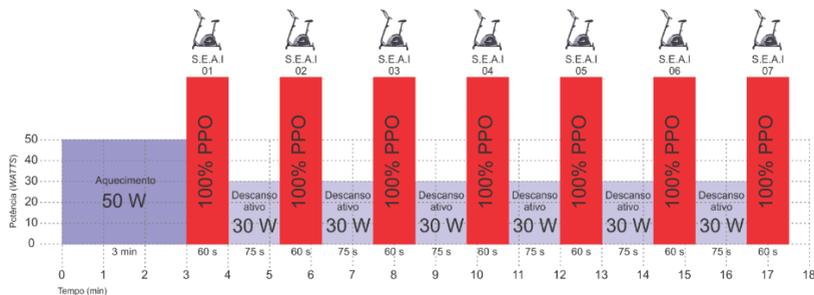
Protocolo de exercício

Na semana anterior à primeira intervenção, com o objetivo de familiarização e também para determinar a intensidade das sessões de HIIT, os participantes foram submetidos a um teste incremental máximo em cicloergômetro (*Excalibur Sport, Lode Medical Technology*®, Groningen, Holanda). O posicionamento do participante sobre o ciclo ergômetro foi ajustado previamente ao teste e anotado em ficha de controle para que a mesma fosse repetida nas subseqüentes sessões de HIIT. Durante a familiarização e aquecimento que antecederam o teste incremental, os indivíduos foram orientados a escolher uma cadência preferida (i. e. 80 a 100 rpm). O aquecimento teve duração de 3 min e carga de 50 W. Em seguida foi dado início ao teste incremental em rampa com carga de trabalho inicial de 30 W com incrementos de 30 W/min até exaustão voluntária. O teste encerrava quando o indivíduo não conseguia sustentar a cadência pré-determinada. Os participantes receberam incentivo verbal durante os instantes finais do teste para garantir que fosse realizado esforço máximo. A potência pico obtida durante o teste incremental foi utilizada para determinar a intensidade das sessões de treinamento subseqüentes. A frequência cardíaca foi monitorada durante todo o teste.

Sete dias após a realização do teste incremental máximo foi realizada a primeira sessão de HIIT. Da mesma maneira, a segunda sessão de HIIT foi realizada sete dias após a primeira. Em cada uma das sessões os participantes realizaram o mesmo protocolo de treinamento. Inicialmente os participantes realizaram aquecimento específico de 3 min com carga de trabalho de 50 W, seguido por 7 séries de esforços de alta intensidade, as quais tiveram duração 60 s e carga de trabalho correspondente a 100% da potência pico obtida no teste incremental máximo. Entre as séries foi realizado intervalo de recuperação ativo com duração de 75 s e com intensidade de 30 W ⁽³⁵⁾ (Figura 2).

Amostras Sanguíneas

Amostras sanguíneas (8 mL) dos participantes foram coletadas, em cada tempo avaliado, por meio de punção da veia intermédia do antebraço, com sistema a vácuo (Vacutainer-BD®, São Paulo, Brasil) em tubos secos ou com ácido etileno-diaminoacético (EDTA) por um profissional da área da enfermagem.



Legenda: S.E.A.I = Série de Esforço de Alta Intensidade
PPO = Potência Pico Obtida

Figura 2 – Representação esquemática do protocolo de exercício. Inicialmente os participantes realizaram aquecimento de 3 min com carga de trabalho de 50 W, seguido por 7 séries de esforços de alta intensidade, as quais tiveram duração 60 s e carga de trabalho correspondente a 100% da potência pico obtida no teste incremental máximo. Entre as séries foi realizado intervalo de recuperação ativo com duração de 75 s e com intensidade de 30 W.

Para a avaliação da glutatona reduzida (GSH) o sangue foi coletado em tubos contendo 23 μL de EDTA tripotássio e 100 μL de N-Ethylmaleimide (NEM) 310 mM por mL de sangue. Misturou-se o sangue por inversões suaves durante 1 min⁽³⁶⁾.

Para a determinação das enzimas antioxidantes glutatona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e hemoglobina foi preparado um hemolisado a partir de 100 μL de células (hemácias) juntamente com 1 mL de solução hemolisante (Solução de MgSO_4 4 nM e Ácido Acético 1 nM).

Para obter o hemolisado, alíquotas de sangue total foram separadas em dois microtubos tipo *Eppendorf* (1 mL de sangue em cada tubo). Após centrifugação, 700 x g, por 10 min a 4 °C, o plasma foi transferido para outro microtubo para análises posteriores. As hemáceas foram utilizadas, após três lavagens com solução fisiológica (com centrifugação a 700 x g, 10 min a 4 °C, a cada lavagem). Após a última centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e foi complementado mesmo volume de solução fisiológica. Foi adicionado 1 mL de Solução Hemolisante a 100 μL destas células (hemácias e solução fisiológica). As amostras foram alocadas em freezer - 80 °C até momento de sua utilização.

Fenóis Totais

A concentração de fenóis totais no plasma foi medida por meio do método colorimétrico de *Folin-Ciocalteu*, conforme descrito por Serafini, Maiani e Ferro-Luzzi⁽³⁷⁾. Em suma, 500 µL de amostras de plasma em duplicata foram acidificadas e, após a extração dos fenóis com mistura de álcool e hidróxido de sódio, as proteínas foram precipitadas, utilizando-se ácido tiobarbitúrico 20% e reextraídas com uma mistura de acetona/água (1/1). Em seguida, alíquotas (80 µL) de amostras foram adicionadas a 0,5 mL de reagente de *Folin-Ciocalteu* (50%). Após 5 min, 1 mL de bicarbonato de sódio a 5% foi adicionado. A mistura foi deixada a temperatura ambiente, no escuro, por 1 h. A absorbância da amostra foi lida em espectrofotômetro automático UV-1800 - *Shimadzu*[®] (Kyoto, Japão) (765 nm) e o ácido gálico foi utilizado como padrão. Os resultados foram expressos em mg eqv. ácido gálico/L.

Ácido Úrico

A concentração sérica de ácido úrico foi avaliada pelo método de Trinder, de acordo com as instruções do fabricante Labtest[®] (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Os resultados foram expressos em mg/dL.

Glutathiona Reduzida (GSH)

A GSH foi determinada no sangue total a partir do preparo dos reagentes: PB200 - Tampão Fosfato 0,2 M pH 7.4 - 50 mL, PB50 - Tampão Fosfato 0,05 M pH 7.4 - 40 mL, NEM 310, TCA 60%, TCA 15%, GSH 20 mM e GSH 2 mM. Para o preparo das fases móveis, a fase A foi composta de 1 litro de ácido acético 0,25% e a fase B por acetonitrila grau HPLC. Adicionou-se ao sangue tratado com NEM 310, volume igual de ácido tricloroacético (TCA) 15%. Agitou-se no vortex e centrifugou-se a 14000 g por 2 minutos a temperatura ambiente. Utilizou-se o sobrenadante límpido para a injeção na coluna-HPLC (*Shimadzu*[®], Tokyo, Japão). Condicionou-se a composição da fase móvel a 94% de fase A e 6% de fase B com taxa de fluxo de 1,25 mL por minuto. Foi realizada a análise no comprimento de onda a 265 nm com 400 nm como referência⁽³⁶⁾. A concentração de GSH (µmol/L) foi calculada utilizando equação da reta com os valores da concentração e da absorbância da curva-padrão. A curva-padrão foi preparada com diferentes concentrações de GSH. Os resultados foram expressos em µmol/g de hemoglobina.

Glutationa Oxidada (GSSG)

A concentração de GSSG foi determinada no sangue total por método colorimétrico em espectrofotômetro automático UV-1800 - Shimadzu® (Kyoto, Japão), de acordo com a metodologia descrita por Giustarini e colaboradores⁽³⁶⁾. Alíquotas de sangue total tratadas com NEM 310 foram desproteinizadas e centrifugadas. O sobrenadante foi retirado e misturado com três volumes de diclorometano (DCM). Os tubos foram misturados vigorosamente em agitador tipo vortex por 5 min e centrifugados a 14000 x g por 30 s. Em seguida, em tubo de ensaio denominado branco, foram adicionados 20 µL de sobrenadante, 925 µL de PB 200 mM, 5 µL de ácido ditionitrobenzóico (DTNB), 20 µL de TCA 7,5% com EDTA e 20 µL de NADPH. A absorbância foi monitorada durante 1 min em 412 nm. A reação foi iniciada pela adição de 20 µL da enzima glutationa redutase (GR) 20 UI/mL, e a cinética da reação foi monitorada em 412 nm, durante 1 min, a temperatura ambiente. Ao final desse tempo, foi adicionado GSSG 10 µM e a absorbância da reação foi lida durante mais 1 min. Para os cálculos, foi utilizada a média de Δ Abs/min de duplicatas. A concentração de GSSG no sangue foi calculada conforme a equação: $GSSG_b = S \times [GSSG_c] / St \times 49,5 \times 2$, onde $S = \Delta$ amostra - Δ branco; $St = (\Delta$ amostra + Δ GSSG) - Δ amostra; 49,5 = fator de diluição da amostra na cubeta e; 2 = diluição devido à acidificação. Os resultados foram expressos em µmol/g de hemoglobina. A relação GSH:GSSG foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: $GSH (\mu\text{mol/g/hb}) / GSSG (\text{mmol/g/hb})$.

Capacidade Antioxidante Total (TAC)

A capacidade antioxidante total (TAC) no soro foi avaliada de acordo com o método descrito por Erel⁽³⁸⁾. O método baseia-se na habilidade dos antioxidantes bloquearem (“*quench*”) o cátion radical estável ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic) diammonium salt), um cromóforo azul-esverdeado com absorção máxima em 660 nm, em comparação com a capacidade antioxidante do Trolox, o análogo hidrofílico da vitamina E. A adição de antioxidantes ao cátion radical pré-formado reduz o radical a ABTS com consequente descoloração da solução. A solução de ABTS foi preparada em peróxido de hidrogênio 2:0 mmol em meio ácido. Após a adição de 5 µL da amostra ou de Trolox em 20 µL da solução de ABTS e 200 µL de tampão acetato 0,4 M, a absorbância foi medida imediatamente após a sua homogeneização em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*®),

Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®]. Os resultados foram expressos em mmol trolox eqv./L.

Estado Oxidante Total (TOS)

Oxidantes presentes na amostra de soro agem sobre o complexo formado com o íon ferroso e a o-dianisidina para íon férrico. A reação é facilitada pelas moléculas de glicerol presentes em grande quantidade no meio reacional. O íon férrico forma um complexo colorido com o alaranjado de xilenol em meio ácido. A intensidade da cor é proporcional ao número total de moléculas presentes e pode ser lida em espectrofotômetro. O ensaio foi calibrado com peróxido de hidrogênio, Erel⁽³⁹⁾. A absorvância foi medida a 560 nm em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*[®], Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®] e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eqv./L.

Índice de Estresse Oxidativo (IEO)

A proporção TOS para TAC foi aceita como Índice de Estresse Oxidativo (IEO). Para os cálculos, o valor do IEO foi calculado de acordo com a seguinte fórmula: IEO (unidade arbitrária) = TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eqv./L)/ TAC (mmol trolox eqv./L)⁽⁴⁰⁾.

Proteínas Carboniladas (PC)

A concentração plasmática de proteínas carboniladas foi determinada por meio de método colorimétrico, conforme descrito por Levine e colaboradores⁽⁴¹⁾. O método baseia-se na reação do grupo carbonil presente na proteína oxidada, com 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH), formando um complexo (proteína-hidrazona). Em um microtubo contendo uma alíquota de 100 μL de plasma, foram adicionados 600 μL de DNPH diluído em HCl 2 M ou 600 μL de HCl 2 M (branco da amostra). A mistura foi incubada por 1 h, no escuro, com agitação a cada 10 min. Posteriormente foram adicionados 600 μL de TCA 20% e a mistura foi centrifugada (11000 x g, por 5 min, a 4 °C). O sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi lavado, por três vezes, com 800 μL de etanol-etilacetato (1:1) e centrifugado por 10 min (15000 x g, a 4 °C). Em seguida, o *pellet* foi descartado e 900 μL de ureia 8 M, dissolvida em tampão de KH_2PO_4 20 mM (fosfato de potássio) com pH 2.3, foram adicionados ao precipitado. A mistura foi incubada em banho-maria por 30 min, a 60 °C e, depois, centrifugada por 10 min a 14000 x g, 4 °C. A absorvância da amostra foi

lida em espectrofotômetro automático UV-1800 - *Shimadzu*[®] (Kyoto, Japão) (360 nm) e a albumina sérica bovina (BSA) foi utilizada como padrão. O conteúdo de grupos carbonil foi determinado, usando-se o coeficiente de absorvidade molar de 22.000 M.L⁻¹.cm⁻¹. Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteína.

Glutathione Peroxidase (GPx)

A GPx atua sobre vários substratos, como os hidroperóxidos orgânicos. A GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com GSH para formar GSSG e o produto de redução do hidroperóxido. Fisiologicamente a GPx atua acoplada à enzima glutathione redutase (GR) que, por sua vez, catalisa a redução de GSSG, usando NADPH como coenzima. A atividade da GPx pode ser medida pela taxa de oxidação de NADPH na presença de GSH e GR. A azida sódica (N₃Na) é adicionada para inibir a ação da catalase⁽⁴²⁾. Foram utilizados os seguintes reagentes: tampão fosfato 143 mM pH 7.5 EDTA 1 mM, NADPH 0,29 mM, N₃Na 100 mM, GSH 20 mM, GR 10 U/mL, t-butil-hidroperóxido 10 mM, cianeto de potássio (KCN) 9 mM. Por fim, 5 µL de amostra foram adicionados e a leitura da absorbância foi medida imediatamente em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*[®], Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®], a 340 nm. Os resultados foram expressos em mU/mg hemoglobina.

Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi mensurada com um kit de ensaio de SOD *Sigma-Aldrich*[®] (Saint Louis, Missouri, EUA) que segue a metodologia de Peskin e Winterbourn⁽⁴³⁾, a qual mede a interação do ânion superóxido com o sal de formazano WST-1 (*Water Soluble Tetrazolium-1*), sendo este convertido em WST-formazan e lido a 450 nm. A absorbância foi medida em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*[®], Winooski, Vermont, EUA) utilizando-se o *software* GEN 5[®], a 450 nm. Os resultados foram expressos em USOD/mg hemoglobina.

Catalase (CAT)

A atividade da catalase é diretamente proporcional à decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e baseia-se na medida da velocidade de consumo deste na amostra estudada. A determinação da catalase foi realizada por meio de sua função peroxidativa. O método baseia-se na

reação da enzima com metanol em presença de uma concentração ideal de H_2O_2 . Nessa reação é produzido formaldeído, o qual será medido colorimetricamente com Purpald. O reagente Purpald forma um heterociclo bicíclico com aldeídos que, ao oxidar, passa a ter cor roxa⁽⁴⁴⁾. A leitura da absorbância foi medida em leitor de microplacas (*Epoch-Biotek Instruments*[®], Winooski, Vermont, EUA), utilizando-se o *software* GEN 5[®], a 540 nm. Os resultados foram expressos em U/mg hemoglobina.

Hemoglobina

A hemoglobina foi utilizada para expressar os resultados das enzimas e foi avaliada por meio da técnica colorimétrica, em espectrofotômetro automático UV-1800 - *Shimadzu*[®] (Kyoto, Japão) com reagentes Labtest[®] (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Os resultados foram expressos em mg/dL.

Tamanho da amostra e análises estatísticas

Até onde sabemos, esta é a primeira investigação sobre o efeito do consumo do fruto juçara antes e após uma sessão de HIIT e, sendo assim, o cálculo do tamanho da amostra foi realizado com base na fórmula proposta por Browner, Newman & Hulley⁽⁴⁵⁾ para diferença de médias. Considerou-se o valor médio do Estado Antioxidante Total (TAS, do inglês *Total Antioxidant Status*) em indivíduos fisicamente ativos de 1,72 $\mu\text{mol trolox Equiv./L}$ e desvio padrão (DP) de 0,16 $\mu\text{mol trolox Equiv./L}$ ⁽⁴⁶⁾, considerando detectar uma diferença significativa de 9% após intervenção (média dos valores percentuais encontrados para a diferença nos estudos de Bowtell e colaboradores⁽⁴⁶⁾ e Howatson e colaboradores⁽⁴⁷⁾). Utilizou-se um alfa de 0,05 (bicaudal) e um poder de estudo de 80%. Assim, estimou-se uma amostra de 17 indivíduos e, adicionando 20% para possíveis perdas, o cálculo amostral final foi constituído de 20 indivíduos.

Os dados quantitativos (absolutos ou variação percentual, $\% \Delta$) foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e quando necessário, a transformação logarítmica dos dados foi realizada. Os dados foram descritos como média e desvio padrão ou erro padrão médio; ou mediana e intervalo interquartil. Eventuais diferenças promovidas pelos dois tratamentos (suco de juçara ou controle) bem como nos diferentes tempos analisados foram detectadas pela análise de variância para medidas repetidas de duas vias (*two-way* RM-ANOVA). O pós-teste de Tukey para comparações múltiplas foi empregado para identificação das

diferenças específicas entre as variáveis. Se nenhum efeito significativo foi observado, realizou-se o cálculo de mudança relativa por meio da fórmula: $\% \Delta = ((\text{valor final} - \text{valor inicial}) / \text{valor inicial}) \times 100$. Para análise das mudanças percentuais antes e após as intervenções entre as médias de GJ e GC foram realizados os testes *t* de Student ou Mann-Whitney, conforme simetria dos dados. Realizou-se também o teste *t* pareado ou de Wilcoxon para verificar a diferença entre os tempos de cada variável em cada intervenção. Foram estabelecidas correlações de Pearson ou Spearman para avaliar a relação entre os marcadores. Para a interpretação da magnitude das correlações foi adotada a seguinte classificação dos coeficientes de correlação: coeficientes de correlação $< 0,4$ (correlação de fraca magnitude), $\geq 0,4$ a $< 0,5$ (de moderada magnitude) e $\geq 0,5$ (de forte magnitude)⁽⁴⁸⁾. Os dados foram analisados no *software* estatístico *Stata*® versão 11.0. Foi considerado um nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Parâmetros Bioquímicos

Análises de variância para medidas repetidas de duas vias (*two-way* RM-ANOVA) denotaram aumento significativo ao longo do tempo nos desfechos fenóis totais, ácido úrico, TAC e GPx, bem como diminuição significativa ao longo do tempo de TOS e IEO, independente do tratamento (suco de juçara ou controle). Não foi observado efeito significativo do tratamento e da interação entre o tipo de tratamento e tempo. A Tabela 3 mostra as mudanças absolutas ao longo do tempo nos parâmetros bioquímicos avaliados.

As mudanças relativas nos desfechos fenóis totais, ácido úrico, GSH, GSSG e relação GSH:GSSG podem ser vistas na Figura 3.

Os fenóis totais no GJ apresentaram um aumento percentual médio significativo de 3% imediatamente após o exercício e de 9% 1h após o exercício ($p = 0,02$) (Figura 3A).

As concentrações de ácido úrico denotaram aumento percentual médio significativo de 2% imediatamente após o exercício e de 55% 1h após o exercício ($p < 0,001$) no GJ (Figura 3B).

Foram observadas maiores e significativas diferenças nas concentrações de GSH no GJ (37%) em comparação ao GC (-5%) 1h após o exercício ($p = 0,04$) (Figura 3C). Evidenciou-se aumento percentual médio significativo de 14% imediatamente após o exercício, seguido de

Tabela 3 – Concentração dos parâmetros bioquímicos 1h antes do exercício (0), imediatamente após o exercício (1) e 1h após o exercício (2) antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle (continua).

Parâmetros	Tempo	Tratamentos				Valor p ^a	Valor p ^b	Valor p ^c
		Controle	EPM/ IQ	Suco de Juçara	EPM/ IQ			
Fenóis Totais (mg/eqv. ácido gálico/L)	0	66,84	5,45	69,41	4,69	0,08	<0,001*	0,39
	1	69,02	5,18	82,70	77,68 – 89,39			
	2	78,26	4,65	100,77	83,74			
Ácido Úrico (mg/dL)	0	5,39	0,28	5,57	0,25	0,26	<0,001*	0,13
	1	5,61	0,25	5,67	0,26			
	2	7,13	0,76	8,55	0,48			
GSH (mmol/g/hb)	0	2,86	0,23	2,19	0,26	0,25	0,95	0,41
	1	2,74	0,30	2,42	0,34			
	2	2,66	0,27	2,47	0,27			
GSSG (mmol/g/hb)	0	0,05	0,04 – 0,08	0,05	0,03 – 0,07	0,45	0,39	0,41
	1	0,04	0,00 – 0,08	0,06	0,03 – 0,06			
	2	0,05	0,04 – 0,08	0,07	0,01 – 0,10			
GSH:GSSG	0	47,14	8,44	29,40	12,70 – 52,80	0,61	0,42	0,46
	1	40,14	10,84	50,29	9,16 – 70,60			
	2	44,13	7,73	29,85	5,18			

Dados são expressos como média e erro padrão médio (EPM), ou mediana e intervalo interquartil (IQ), n = 15.

GSH: Glutathione Reduzida; GSSG: Glutathione Oxidada.

MR-ANOVA: ^aTratamento; ^bTempo; ^cInteração tratamento e tempo. *Valores significativos.

Tabela 3 – Concentração dos parâmetros bioquímicos 1h antes do exercício (0), imediatamente após o exercício (1) e 1h após o exercício (2) antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle (continuação).

Parâmetros	Tempo	Tratamentos				Valor p ^a	Valor p ^b	Valor p ^c
		Controle	EPM/ IQ	Suco de Juçara	EPM/ IQ			
TAC (mmol Trolox eqv./L)	0	0,46	0,04	0,51	0,05	0,84	<0,001*	0,20
	1	0,61	0,05	0,51	0,34 – 0,58			
	2	0,69	0,03	0,74	0,04			
TOS (µmol H ₂ O ₂ eqv./L)	0	6,99	1,16	4,70	2,10 – 7,92	0,27	0,01*	0,10
	1	2,89	2,10 – 4,68	3,98	2,39 – 6,62			
	2	2,85	0,75 – 3,44	3,35	1,83 – 6,58			
IEO	0	14,36	7,25 – 24,37	9,59	3,06 – 25,78	0,40	<0,001*	0,13
	1	4,98	2,92 – 9,36	7,65	3,71 – 11,59			
	2	4,31	1,17 – 5,49	5,32	1,97 – 9,54			
PC (nmol/mg de proteína)	0	30,07	2,83	31,00	26,00 – 41,00	0,53	0,15	0,08
	1	34,00	29,00 – 61,00	31,00	24,00 – 41,00			
	2	33,27	2,86	28,00	26,00 – 38,00			

Dados são expressos como média e erro padrão médio (EPM), ou mediana e intervalo interquartil (IQ), n = 15.

Tempo 0: 1h antes do exercício; Tempo 1: imediatamente após o exercício; Tempo 2: 1h após o exercício.

TAC do inglês *Total Antioxidant Capacity*, capacidade antioxidante total; TOS do inglês *Total Oxidant Status*, estado oxidante total; IEO: Índice de Estresse Oxidativo; PC: Proteínas Carboniladas.

MR-ANOVA: ^aTratamento; ^bTempo; ^cInteração tratamento e tempo. *Valores significativos.

Tabela 3 – Concentração dos parâmetros bioquímicos 1h antes do exercício (0), imediatamente após o exercício (1) e 1h após o exercício (2) antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle (continuação).

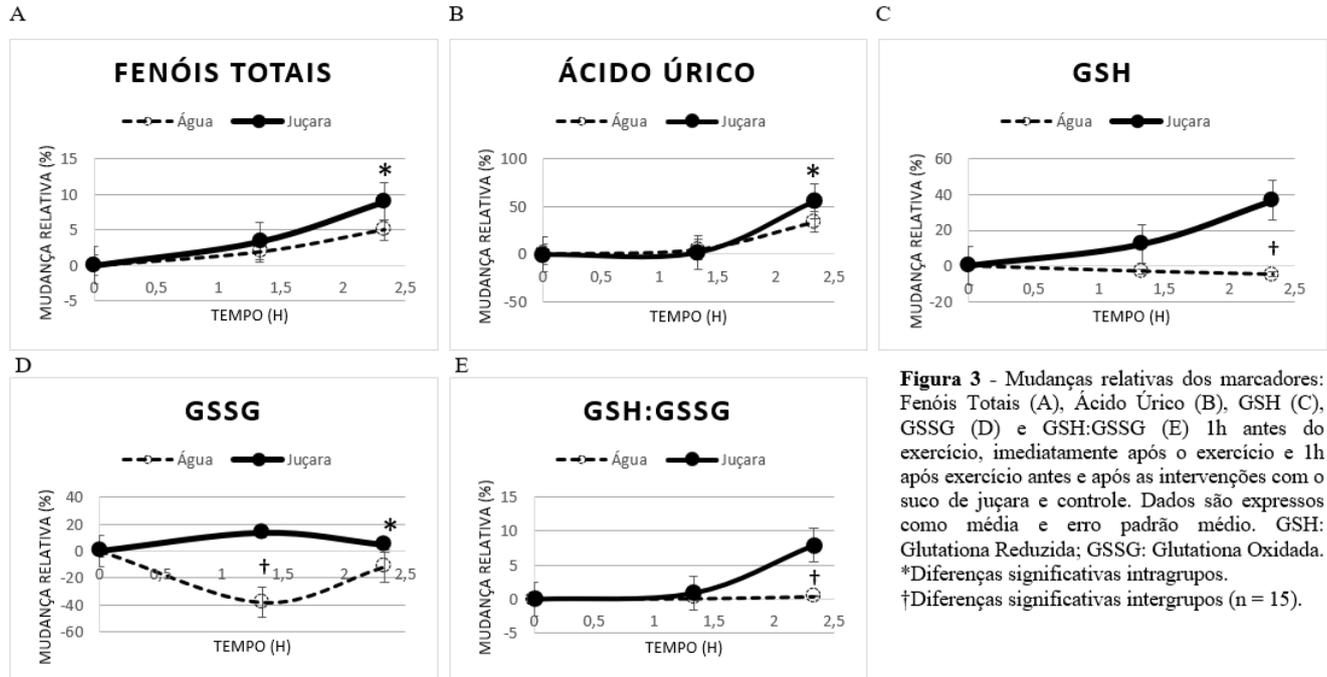
Parâmetros	Tempo	Tratamentos				EPM/ IQ	Valor p ^a	Valor p ^b	Valor p ^c
		Controle	EPM/ IQ	Suco de Juçara	EPM/ IQ				
GPx (mU/mg hb)	0	7,28	0,80	7,41	0,86	0,74	0,03*	0,71	
	1	8,14	0,79	9,59	1,00				
	2	8,40	7,51 – 11,52	8,88	0,85				
SOD (USOD/mg hb)	0	45,53	20,69 – 49,70	39,07	6,16	0,12	0,15	0,19	
	1	45,81	32,20 – 55,48	49,98	5,71				
	2	39,72	6,72 – 51,32	42,92	5,25				
CAT (U/mg hb)	0	250,57	41,32	242,82	44,23	0,85	0,81	0,98	
	1	203,69	133,13 – 362,66	315,83	62,53				
	2	150,27	100,49 – 514,88	333,95	70,52				

Dados são expressos como média e erro padrão médio (EPM), ou mediana e intervalo interquartil (IQ), n = 15.

Tempo 0: 1h antes do exercício; Tempo 1: imediatamente após o exercício; Tempo 2: 1h após o exercício.

GPx: Glutathione Peroxidase; SOD: Superóxido Dismutase CAT: Catalase.

MR-ANOVA: ^aTratamento; ^bTempo; ^cInteração tratamento e tempo. *Valores significativos.



declínio para 5% 1h após o exercício no parâmetro GSSG ($p = 0,03$) no GJ. Observou-se também concentração de GSSG significativamente maior no GJ (14%) comparado ao GC (-38%) imediatamente após o exercício ($p = 0,03$) (Figura 3D). A relação GSH:GSSG no GJ denotou aumento de 8% 1h após o exercício em relação ao grupo controle (0,4%) ($p = 0,03$) (Figura 3E).

As mudanças relativas nos desfechos TAC, TOS, IEO e proteínas carboniladas podem ser vistas na Figura 4.

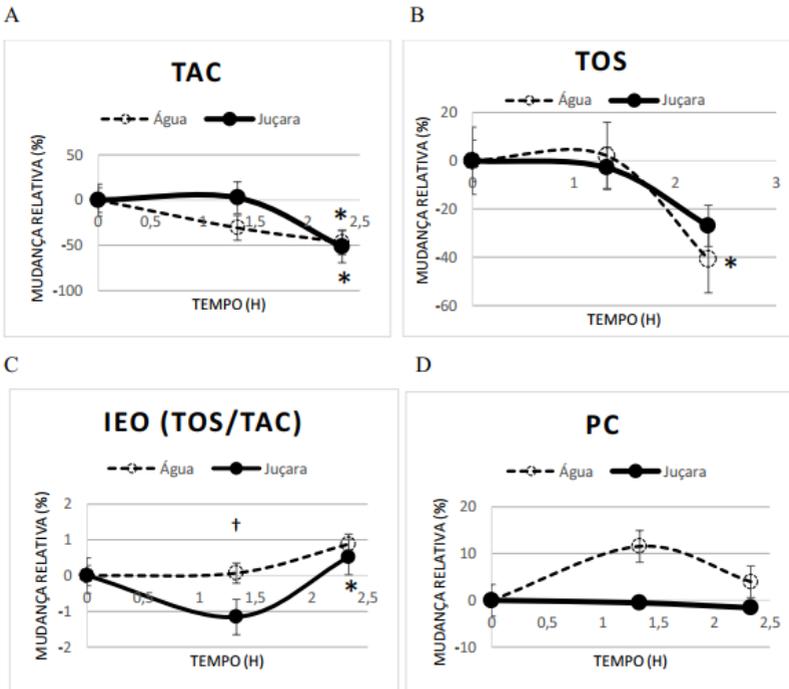


Figura 4 - Mudanças relativas dos marcadores: TAC (A), TOS (B), IEO (TOS/TAC) (C) e PC (D) 1h antes do exercício, imediatamente após o exercício e 1h após exercício antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle. Dados são expressos em média e erro padrão médio. TAC do inglês: *Total Antioxidant Capacity*, capacidade antioxidante total; TOS do inglês: *Total Oxidant Status*, estado oxidante total; IEO: Índice de Estresse Oxidativo; PC: Proteínas Carboniladas. *Diferenças significativas intragrupos; †Diferenças significativas intergrupos ($n = 15$).

Tênuve aumento (3%) imediatamente após o exercício, seguido de declínio significativo (-52%) 1h após o exercício ($p < 0,01$) nas concentrações de TAC foi observado no GJ, enquanto no GC observou-se queda significativa de -31% imediatamente após o exercício e de -47% 1h após o exercício ($p = 0,01$) (Figura 4A).

O parâmetro TOS apresentou aumento limítrofe de 2% imediatamente após o exercício seguido de declínio significativo (-41%) 1h após o exercício no GC ($p < 0,05$) (Figura 4B).

Verificou-se decréscimo do IEO imediatamente após o exercício (-1,16%) no GJ, seguido por exíguo aumento (0,52%) 1h após o exercício ($p = 0,01$). Observou-se diminuição significativa no GJ imediatamente após o exercício comparado ao GC ($p = 0,03$) (Figura 4C). Constatou-se ainda correlação positiva de forte magnitude entre TOS e IEO imediatamente após o exercício ($r = 0,89$, $p < 0,01$) e 1h após o exercício ($r = 0,80$, $p < 0,01$) no GC.

Não foram observadas diferenças significativas após a ingestão das intervenções nas concentrações de proteínas carboniladas (Figura 4D). Correlação negativa de forte magnitude ($r = -0,63$, $p = 0,01$) foi observada entre proteínas carboniladas e ácido úrico imediatamente após o exercício no GJ.

As mudanças relativas médias nas atividades enzimáticas de GPx, SOD e CAT podem ser vistas na Figura 5. Em relação às enzimas antioxidantes, não houve diferenças significativas intra e intergrupos ao longo do tempo.

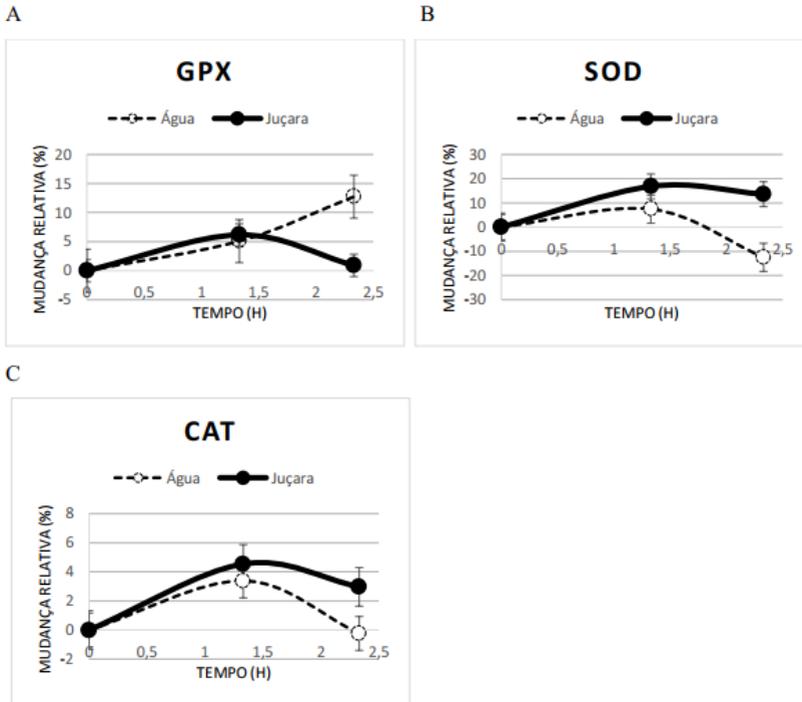


Figura 5 - Mudanças relativas das enzimas antioxidantes: GPx (A), SOD (B) e CAT (C) 1h antes do exercício, imediatamente após o exercício e 1h após exercício antes e após as intervenções com o suco de juçara e controle. Dados são expressos como média e erro padrão médio. GPx: Glutathione Peroxidase; SOD: Superóxido Dismutase; CAT: Catalase (n = 15).

Discussão

Este é o primeiro estudo a investigar o impacto do consumo agudo do suco de juçara antes e após uma sessão de HIIT em indivíduos fisicamente ativos. Foi hipotetizado que o consumo do suco de juçara diminuiria o estresse oxidativo após a sessão de HIIT. Em apoio à hipótese, como principais achados, observou-se diminuição do IEO imediatamente após o exercício e aumento das concentrações de GSH e da relação GSH:GSSG 1h após o exercício no GJ.

Em contraste com nossos achados, Sadowska-Kreppa e colaboradores⁽⁴⁹⁾ encontraram aumento significativo no nível de GSH de repouso, seguido por acentuado declínio após o exercício em sete saltadores de elite após o consumo, por seis semanas, de 100 mL de uma

mistura de suco, sendo o açaí o ingrediente predominante e quantidades menores de algumas outras frutas processadas. Entretanto, tem sido sugerido que o aumento da GSH induzido pelo exercício nas fibras musculares se deve ao aumento da atividade da enzima γ -glutamilcisteína sintetase - γ GCS⁽⁵⁰⁾. Esta enzima está aumentada em músculos treinados no exercício e, provavelmente, desempenha um papel importante na síntese de GSH induzida pelo exercício no músculo esquelético. Ainda, os polifenóis dietéticos podem regular expressão de γ GCS⁽⁵¹⁾.

Até o momento não foram encontrados estudos que utilizaram o marcador GSSG ou a relação GSH:GSSG associados ao consumo de frutos *in natura* ricos em antocianinas e exercício, porém, em estudo que avaliou o efeito do consumo de chá mate, bebida rica em antioxidantes, na força muscular e nos marcadores de estresse oxidativo após exercício excêntrico, não foram observadas mudanças significativas ao longo do tempo entre os níveis de GSSG ou na relação GSH:GSSG no sangue⁽²¹⁾. Tendo em vista a carência de estudos que utilizaram o marcador GSSG associados ao consumo de frutos *in natura* ricos em antocianinas, a resposta para o aumento significativo de 14% no marcador GSSG imediatamente após o exercício observado no GJ parece indicar que, a fim de proteger o organismo, o consumo do suco de juçara provocou maior utilização de GSH, favorecendo a transformação de H_2O_2 em H_2O , aumentando as concentrações de GSSG, que retornaram aos seus valores basais 1h após o exercício. O GSSG é a forma oxidada de GSH e reflete um efeito intracelular de desequilíbrio redox. Portanto, a relação GSH:GSSG está relacionada ao estresse oxidativo e é até considerado o mais sensível marcador de estresse oxidativo em resposta ao treinamento e o melhor indicador para refletir o status redox⁽⁵²⁾. Em nosso estudo foi observado aumento significativo na relação GSH:GSSG no GJ 1h após o exercício comparado ao GC, o que indica proteção contra o estresse oxidativo gerado pelo exercício. Em estudo duplo-cego, *cross-over* e randomizado⁽⁵³⁾, 18 indivíduos jovens do sexo masculino com experiência em treinamento com pesos utilizaram extrato de chá preto (composto rico em antioxidantes) em cápsulas ou placebo durante nove dias. No sétimo dia de intervenção os indivíduos completaram duas sessões de teste de *Wingate* e, comparado ao placebo, o grupo que consumiu as cápsulas contendo extrato de chá preto apresentou maior relação GSH:GSSG aos 30 e 60 minutos após o teste.

Estudo que avaliou as mudanças nos antioxidantes não enzimáticos após exercício anaeróbico (*sprint* de 20 segundos em cicloergômetro) observou aumento do TOS e IEO 3 min após o término do exercício, seguido por diminuição do TOS e IEO 15 min após o término do

exercício⁽⁵⁴⁾. Diferente de nossos resultados, Demirbag e colaboradores⁽⁵⁵⁾ observaram aumento do IEO imediatamente após teste de esteira com duração aproximada de 8 min. A redução do IEO provocado pelo HIIT imediatamente após o exercício no GJ pode ser explicada pelo aumento da TAC e manutenção do TOS, denotando efeito protetor do suco de juçara, enquanto no GC houve diminuição da TAC e aumento do TOS. Por outro lado, observou-se pequeno aumento do IEO e pronunciada diminuição da TAC em ambos os grupos 1h após o exercício, o que indica um provável consumo de antioxidantes em função do aumento oxidativo provocado pelo HIIT. Considerando um possível efeito benéfico da ação dos processos oxidativos provocados pelo exercício na adaptação ao treinamento⁽⁵⁶⁾, este aumento do IEO e diminuição da TAC pode ser apropriado, portanto, futuras pesquisas devem avaliar se este comportamento pode provocar melhorias na adaptação ao exercício, aos danos teciduais e ao desempenho físico.

Em relação às concentrações de TAC, não foram encontradas diferenças significativas ao longo do tempo entre as intervenções (GJ x GC). Suportando nossos achados, Bowtell e colaboradores⁽⁴⁶⁾ também não observaram diferenças significativas ao longo do tempo entre o grupo que recebeu 30 mL de suco de cereja x placebo servido duas vezes ao dia durante sete dias antes e dois dias após uma sessão intensiva de extensão de joelhos em homens treinados. Por outro lado, Howatson e colaboradores⁽⁴⁷⁾ observaram significativo aumento do percentual do estado antioxidante total em maratonistas suplementados com uma mistura suco de cereja e suco de maçã (236 mL – 2 vezes ao dia x grupo placebo (concentrado de frutas pasteurizado). Mertens-Talcott e colaboradores⁽¹⁹⁾ observaram que o consumo agudo de uma dose única de suco de açaí, com uma matriz alimentar e teor de compostos antioxidantes muito semelhante ao suco de juçara, levou a um aumento significativo da atividade antioxidante em indivíduos saudáveis, porém sem exercício, após a primeira e a segunda hora de ingestão.

Segundo Cardoso e colaboradores⁽⁵⁷⁾ os compostos fenólicos são geralmente relacionados com propriedades bioativas e modulação de biomarcadores de estresse oxidativo. A ingestão de polifenóis pode contribuir para o aumento da atividade antioxidante⁽⁵⁸⁾ e esta pode ser determinada por diferentes biomarcadores⁽⁵⁹⁾. No entanto, a eficiência dos polifenóis dietéticos dependem de sua biodisponibilidade⁽⁶⁰⁾. Há indícios de que o exercício intenso está relacionado com uma melhora da translocação de fenólicos derivados do intestino para a circulação⁽⁶¹⁾. Significativa concentração plasmática de antocianinas pode ser observada entre 0,5 a 4h após seu consumo⁽⁶²⁾, sendo que a concentração máxima de

antocianinas alcançada no plasma observada em alguns estudos ocorreu entre 1 – 2h^(20, 63, 64, 65), motivo pelo qual justifica-se a escolha dos tempos das coletas sanguíneas deste estudo. A elevação significativa de fenóis totais ao longo do tempo observada no grupo que consumiu uma dose única de 250 mL de suco de juçara, contendo 1,40 mg/mL (total = 350 mg) de fenólicos totais está em conformidade com o observado em triatletas do sexo masculino que consumiram, por 20 dias, 300 mL de suco de uva roxa orgânica contendo 5,32 mg/mL (total = 1.596 mg/dia) de polifenóis, os quais também apresentaram aumento de polifenóis totais⁽⁶⁶⁾. Os polifenóis podem diminuir o dano oxidativo de proteínas, lipídeos e outros constituintes celulares pela rápida doação de um elétron a um radical de grupos hidroxila ($\cdot\text{OH}$) ligados a seus anéis fenólicos. Através deste processo de eliminação, polifenóis podem reduzir quimicamente e estabilizar ou inativar espécies de radicais livres^(67, 68).

Alguns estudos sugerem que o exercício induz elevação do ácido úrico por meio de mecanismos de defesa antioxidante^(69, 70) e que o aumento do ácido úrico eleva a capacidade antioxidante total e diminuiu o estresse oxidativo provocado pelo exercício⁽⁷¹⁾. O ácido úrico age como um potente eliminador de radicais peróxido e hidroxil, especialmente durante o estresse metabólico⁽⁷²⁾ e é o principal componente da capacidade antioxidante do plasma⁽³⁴⁾. Em nosso estudo foi observado aumento nas concentrações de ácido úrico ao longo do tempo no GJ, o que está em conformidade com o estudo de Gonçalves e colaboradores⁽⁶⁶⁾, que observou aumento de 33% nos níveis séricos de ácido úrico. Toscano e colaboradores⁽⁷³⁾ investigaram homens e mulheres treinados que participaram de uma corrida rústica distribuídos em 2 grupos: suco de uva (10 mL/kg/dia) ou bebida à base de carboidratos (sabor de uva artificial) com a mesma quantidade de calorias, carboidratos e volume que o suco de uva. Após 28 dias foi observado um aumento de 38% nas concentrações de ácido úrico no grupo que consumiu o suco de uva comparado ao grupo que recebeu bebida à base de carboidratos. Estudo de McCormick e colaboradores⁽⁷⁴⁾ não encontrou efeitos significativos nas concentrações de ácido úrico após a ingestão, durante seis dias, de 90 mL de concentrado de cereja diluído em água em relação ao placebo (mistura artificial contendo limão, cranberry e framboesa, acrescentado de coloração idêntica ao concentrado de cereja) em nove jogadores de pólo aquático.

Quanto às concentrações de proteínas carboniladas, em nosso estudo não foram observadas diferenças significativas ao longo do tempo entre os grupos. Suportando nossos achados, maratonistas que consumiram 236 mL de bebida comercial contendo uma mistura suco de

cereja e suco de maçã duas vezes ao dia, nos 5 dias pré-maratona, no dia da maratona e 2 dias após a maratona não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo placebo⁽⁴⁷⁾. Por outro lado, estudo que suplementou 30 mL de suco de cereja duas vezes ao dia (total de 60 mL/dia) por 7 dias antes e 2 dias após uma sessão intensiva de treinamento de resistência de extensão de joelhos encontrou melhora na recuperação, quando comparado ao placebo, sendo esta melhora acompanhada por uma redução das proteínas carboniladas no soro, indicativa de redução do dano oxidativo⁽⁴⁶⁾. Proteínas carboniladas são degradadas em proteossomas e tem sido observado que a atividade da proteossoma aumenta durante o exercício⁽⁷⁵⁾.

O exercício pode ativar o sistema antioxidante enzimático⁽⁷⁶⁾. Fischer e colaboradores⁽⁷⁷⁾ observaram aumento na atividade enzimática antioxidante, usando o protocolo mais popular de HIIT (isto é, *sprints* repetidos de 30 s) em três sessões de treinamento. Após cada sessão de HIIT a atividade antioxidante enzimática aumentou, mas retornou aos níveis de repouso após 3 a 24h. Tendência similar foi observada em nosso estudo com aumento da atividade enzimática antioxidante imediatamente após o exercício, seguido por redução 1h após o término do exercício, exceto na enzima GPx no GC, em que suas concentrações continuaram a aumentar após o exercício. Tendo em consideração que as EROs podem responder positivamente às adaptações do treinamento⁽⁵⁶⁾, avaliamos parâmetros de estresse oxidativo, através de marcadores oxidativos e antioxidantes em apenas duas sessões de HIIT, evitando os efeitos benéficos como consequência do exercício. Estudo anterior⁽⁷⁸⁾ já demonstrou que uma sessão de HIIT tem um maior impacto no estresse oxidativo.

A atividade enzimática após a ingestão de antocianinas é controversa entre os estudos. Pilaczynska-Szczesniak e colaboradores⁽⁷⁹⁾ suplementaram 50 mL suco de chokeberry ou placebo três vezes ao dia por quatro semanas e observaram que no grupo suplementado a atividade da GPx foi menor logo após o exercício. Cardoso e colaboradores⁽²⁰⁾ encontraram aumento significativo na atividade da GPx 2h após a ingestão de uma dose única (450 mL) de suco de juçara em indivíduos saudáveis, assim como Mathison e colaboradores⁽⁸⁰⁾ também observaram aumento significativo na atividade da GPx em indivíduos saudáveis 2h após a ingestão de uma dose única de bebida de extrato de folha de cranberry.

Nossas descobertas corroboram com outros estudos^(49, 66) em que a enzima SOD também não sofreu alterações significativas em ambos os grupos (grupo suplementado e grupo placebo). Em humanos, a enzima

SOD é sensível à ingestão de polifenóis^(58, 81) e é uma enzima antioxidante citosólica que é responsável pela dismutação do ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio⁽⁸²⁾, o que pode explicar a maior tendência de aumento no GJ quando comparada ao GC. A menor atividade da SOD observada no GC pode indicar uma diminuição da taxa de dismutação do ânion superóxido para o peróxido de hidrogênio⁽⁸³⁾.

Em relação à enzima catalase, nossos resultados assemelham-se com os de Sadowska-Kreppa e colaboradores⁽⁴⁹⁾ os quais encontraram aumento limítrofe logo após o exercício, porém em nosso estudo observou-se declínio 1h após o exercício em ambos os grupos. Outros estudos^(84, 85) também observaram aumento logo após o exercício aeróbico e anaeróbico. Em virtude da CAT ser uma enzima intracelular, a mobilização de reservas antioxidantes teciduais na circulação pode ocorrer, possivelmente, devido à uma dispersão da CAT das fibras musculares ou dos eritrócitos para a circulação⁽⁸⁵⁾.

De acordo com Toufeksian, Lorgeril e Nagy⁽⁸⁶⁾, as antocianinas aumentam as defesas antioxidantes endógenas por vias e mecanismos que incluem restaurar ou aumentar a atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx e, conseqüentemente, aumentando o teor de glutathione, porém estes autores acreditam que o efeito do consumo de uma dose única de sucos ricos em compostos fenólicos, principalmente antocianinas, sobre a atividade de enzimas antioxidantes em indivíduos saudáveis ainda parece inconclusivo.

É difícil determinar se existe efeito cumulativo, ou seja, se o consumo do suco de juçara em uma maior dose e/ ou por um maior período pode resultar em um aumento da atividade antioxidante e maior atenuação dos biomarcadores de danos oxidativos. Cabe ressaltar que, devido ao conteúdo de lipídeos presente no suco, a ingestão de uma maior dose poderia causar desconforto gástrico e, possivelmente, afetar o desempenho nas sessões de HIIT. Além disso, a orientação aos participantes de manterem baixo consumo de antioxidantes nas 48h anteriores aos testes limita a generalização dos resultados, visto que a retirada de alimentos ricos em antioxidantes habitualmente consumidos pelos participantes do estudo pode ter influenciado os resultados. Entretanto, por se tratar de um consumo único de uma intervenção alimentar rica em antioxidantes, a ingestão de outros alimentos com propriedades antioxidantes poderia interferir na interpretação dos resultados. Pesquisas futuras devem ser realizadas mantendo as dietas habituais dos investigados para verificar se o suco de juçara influencia os parâmetros bioquímicos avaliados neste estudo. Outra limitação a ser citada diz respeito aos participantes saberem a intervenção que estavam

consumindo (i. e. suco de juçara ou água), contudo, procedimentos de randomização foram realizados para amenizar este fator. Destaca-se que os diversos estudos que avaliaram o consumo de frutos ricos em antocianinas e exercício diferem nas dosagens, utilização de placebo, tempo de consumo, protocolos de exercício (i. e. força vs endurance vs *sprint*; diferentes intensidades, volumes e duração), nível de atividade física (i. e. fisicamente ativos vs atletas), biomarcadores avaliados, os quais produzem resultados conflitantes que dificultam a discussão de novos achados. Porém, este é o primeiro estudo a avaliar a influência do fruto juçara nos parâmetros de estresse oxidativo antes e após o exercício em humanos. Ainda, a carência de resultados conclusivos para alguns parâmetros pode estar relacionada à oscilação intra e inter indivíduos, como, por exemplo, a classificação do nível de atividade física e os valores diferentes de potência (W). Apesar da intensidade do HIIT de cada participante ter sido controlada e permanecer constante ao longo do estudo, os participantes possuíam diferentes tipos de treinamento regular. Assim, o tipo de treinamento associado com a predisposição genética é um fator contribuinte para a variabilidade interindividual durante o teste. Por outro lado, a resposta ao estresse oxidativo após essas sessões de exercício é maior pela manhã em comparação com o período da tarde (+12%)⁽⁸⁷⁾ e em nosso estudo as sessões de HIIT foram realizadas no período matutino. Além disso, há grande variabilidade inter indivíduos na absorção e biodisponibilidade de compostos fenólicos. Segundo artigo de revisão de Cardoso e colaboradores⁽⁵⁷⁾, os compostos fenólicos são metabolizados pela microbiota intestinal, e seus metabólitos podem exercer efeitos na permeabilidade do intestino e contribuir para os efeitos biológicos dos compostos originais, porém, há carência de ensaios clínicos em humanos para melhor esclarecer o uso do fruto juçara na biologia humana. Ainda, um fator a ser considerado refere-se à safra de colheita dos frutos juçara utilizados no estudo ser do mês de maio (outono no Brasil), uma vez que há evidências de que frutos colhidos no verão apresentam maior quantidade de compostos fenólicos⁽⁸⁸⁾.

Como pontos fortes deste estudo, pode-se citar que este é o primeiro estudo envolvendo o fruto juçara e exercício em humanos e também o primeiro estudo que avaliou o efeito de bebida rica em antocianinas sobre os parâmetros bioquímicos GSSG, GSH:GSSG, TOS e IEO antes e após o exercício. Além disso, o presente estudo avaliou 12 parâmetros de estresse oxidativo, marcadores oxidativos e antioxidantes, fornecendo evidências inovadoras sobre o efeito do suco de juçara sobre a atividade antioxidante e biomarcadores de estresse oxidativo antes e após uma sessão de HIIT em indivíduos fisicamente ativos jovens.

Em conclusão, o suco de juçara diminuiu o parâmetro IEO imediatamente após o exercício e aumentou os parâmetros GSH e a relação GSH:GSSG 1h após o exercício comparado ao grupo controle. Ainda, observou-se que a ingestão do suco de juçara aumentou as concentrações de fenóis totais e ácido úrico ao longo do tempo, indicando que o consumo do suco de juçara pode contribuir para as respostas antioxidantes e, possivelmente, na recuperação após o exercício. No entanto, indivíduos fisicamente ativos que desejam consumir o suco de juçara com a finalidade de recuperação durante a intensificação dos períodos de treinamento, onde o grau de estresse oxidativo tende a ser maior, precisam equilibrar o objetivo de promover a recuperação de sessões de treinamento com a atenuação da sinalização redox, necessária às adaptações fisiológicas induzidas pelo exercício. Futuras pesquisas devem examinar o uso do suco de juçara por um maior período de intervenção, em diferentes doses e que incluam a utilização de placebo, bem como em outras condições de exercício, a fim de investigar possíveis alterações nestes e em outros parâmetros bioquímicos, fisiológicos, bem como avaliar a recuperação e desempenho do exercício.

Referências

1. Bell PG, McHugh MP, Stevenson E, *et al.* (2013) The role of cherries in exercise and health. *The Scand J Med Sci Sports* **24**, 477-490.
2. Goldfarb AH, Garten RS, Cho C, *et al.* (2011) Effects of a Fruit/Berry/Vegetable Supplement on Muscle Function and Oxidative Stress. *Med Sci Sports Exerc* **43**, 501-508.
3. Peternelj TT & Coombes J (2011) Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? *Sports Med* **41**, 1043-1069.
4. Powers SK, Nelson WB & Hudson MB (2011) Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Rad Biol Med* **51**, 942-950.
5. Powers SK & Jackson MJ (2008) Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* **88**, 1243-1276.

6. Gomez-Cabrera MC, Salvador-Pascual A, Cabo H, *et al.* (2015) Redox modulation of mitochondriogenesis in exercise. Does antioxidant supplementation blunt the benefits of exercise training? *Free Rad Biol Med* **86**, 37-46.
7. Vidal K, Robinson N & Ives SJ (2017) Exercise performance and physiological responses: the potential role of redox imbalance. *Physiol Rep* **5**, 1-15.
8. Funes L, Carrera-Quintanar L, Cérdan-Calero M, *et al.* (2011) Effect of lemon verbena supplementation on muscular damage markers, proinflammatory cytokines release and neutrophils' oxidative stress in chronic exercise. *Eur J Appl Physiol* **111**, 695-705.
9. Jówko E, Sacharuk J, Balasinska B, *et al.* (2011) Green tea extract supplementation gives protection against exercise-induced oxidative damage in healthy men. *Nutr Res* **31**, 813-821.
10. Braakuis AJ, Hopkins WG & Lowe TE (2014) Effects of dietary antioxidants on training and performance in female runners. *Eur J of Sport Sci* **14**, 160-168.
11. McAnulty LS, Nieman DC, Dunke CL, *et al.* (2011) Effect of blueberry ingestion on natural killer cell counts, oxidative stress, and inflammation prior to and after 2.5 h of running. *Appl Physiol Nutr Metab* **26**, 976-984.
12. McLeay Y, Barnes MJ, Mundel T, *et al.* (2012) Effect of New Zealand blueberry consumption on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. *J Int Soc Sports Nutr* **9**, 1-12.
13. Borges GSC, Gonzaga LV, Jardim FA, *et al.* (2013) Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC-ESI-MS/MS. *Food Res Int* **51**, 363-369.
14. Felzenszwalb I, Marques MRC, Mazzei JL, *et al.* (2013) Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: A potential superfruit to be considered. *Food Chem Toxicol* **58**, 536-544.

15. Del Bó C, Martini D, Porrini M, *et al.* (2015) Berries and oxidative stress markers: an overview of human intervention studies. *Food Funct* **6**, 2890-2917.
16. Pojer E, Mattivi F, Johnson D, *et al.* (2013) The case for anthocyanin consumption to promote human health: a review. *Compr Revi Food Sci Food Saf* **12**, 483-508.
17. Malacrida CR & Motta S (2006) Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. *Boletim Ceppa* **24**, 59-82.
18. Jensen GS, Wu X, Patterson KM, *et al.* (2008) *In vitro* and *in vivo* antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. *J Agric Food Chem* **56**, 8326-8333.
19. Mertens-Talcott SU, Rios J, Jilma-Stohlawetz P, *et al.* (2008) Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich acai juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. *J Agric Food Chem* **56**, 7796-7802.
20. Cardoso AL, Di Pietro PF, Vieira FGK, *et al.* (2015) Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. *J Funct Foods* **17**, 152-162.
21. Panza VSP, Diefenthaler F, Tamborindeguy AC, *et al.* (2016) Effects of mate tea consumption on muscle strength and oxidative stress markers after eccentric exercise. *B J Nutri* **115**, 1370-1378.
22. Kuntz S, Kunz Z, Hermann J, *et al.* (2014) Anthocyanins from fruit juices improve the antioxidant status of healthy young female volunteers without affecting anti-inflammatory parameters: results from the randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over ANTHONIA (ANTHOcyanins in Nutrition Investigation Alliance) study. *B J Nutri* **112**, 925-936.
23. Zabotto CB (1996) Registro fotográfico para inquéritos dietéticos. UNICAMP. Campinas.

24. Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, *et al.* (2005) Tabela de avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. Rio de Janeiro: Atheneu, 5 ed.
25. World Health Organization (2006). The World Health Report: working together for health. Geneva: World Health Organization.
26. International Physical Activity Questionnaire - IPAQ (2004). Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) - Short Form. Version 2.0. April 2004.
27. Carlsen MH, Halvorsen BL, Holte K, *et al.* (2010) The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutr J* **9**, 2-11.
28. Puchau B, Zulet MA, de Echávarri AG, *et al.* (2009) Dietary total antioxidant capacity: a novel indicator of diet quality in healthy young adults. *J Am Coll Nutr* **28**, 648-656.
29. AOAC (2005) *Official method of Analysis*. 18th Edition. Association of Officiating Analytical Chemists. Washington DC. Method 935.14 and 992.24.
30. Rufino MSM, Alves RE, De Brito ES, *et al.* (2010) Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem* **121**, 996-1002.
31. Singleton VL & Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enology Vitic* **16**, 144-158.
32. Giusti MM & Wrolstad RE (2001) Anthocyanins: characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad. R.E. (Ed.). *Curr Prot Food Anal Chem* **2**, 1-13.
33. Brand-Williams W, Cuvelier ME & Berset C (1995) Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology* **28**, 25-30.

34. Benzie IF & Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem* **239**, 70-76.
35. Souza-Silva AA, Moreira E, Melo-Marins D, *et al.* (2016) High intensity interval training in the heat enhances exercise-induced lipid peroxidation, but prevents protein oxidation in physically active men. *Temperature* **3**, 167-175.
36. Giustarini D, Dalle-Donne I, Milzani A, *et al.* (2013) Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. *Nat Protoc* **8**, 1660-1669
37. Serafini M, Maiani G & Ferro-Luzzi A (1998) Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J Nutr* **128**, 1003-1007.
38. Erel O (2004) A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation. more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* **37**, 277-285.
39. Erel O (2005) A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* **38**, 1103-1111.
40. Cingi Yirün M, Ünal K, Altunsoy Şen N, *et al.* (2016) Evaluation of Oxidative Stress in Bipolar Disorder in terms of Total Oxidant Status, Total Antioxidant Status, and Oxidative Stress Index. *Arch Neuropsychiatry* **53**, 194-198.
41. Levine R, Garland D, Oliver CN, *et al.* (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* **186**, 464-478.
42. Wendel A (1981) Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* **77**, 325-333.
43. Peskin AV & Winterbourn CC (2000) A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1). *Clin Chim Acta* **293**, 157-166.

44. Johansson LH & Borg LAH (1988) A spectofotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem* **174**, 331-336.
45. Browner WS, Newman TB & Hulley SB (2008). Estimando o Tamanho da Amostra e o Poder Estatístico: Aplicações e Exemplos. In: HULLEY. S. B. Delineando a Pesquisa Clínica. Porto Alegre: Artmed, 83-86.
46. Bowtell JL, Sumners DP, Dyer A, *et al.* (2011) Montmorency Cherry Juice Reduces Muscle Damage Caused by Intensive Strength Exercise. *Med Sci Sports Exerc* **43**, 1544-1551.
47. Howatson G, McHugh MP, Hill JA, *et al.* (2010) Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. *Scand J Med Sci Sports* **20**, 843-852.
48. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, *et al.* (2003). Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica. Porto Alegre: Editora Artmed, 2 ed.
49. Sadowska-Kreppa E, Klapcínska B, Podgórski T, *et al.* (2015) 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* **32**, 161-168.
50. Ji LL. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems (1995) *Exerc Sport Sci Rev* **23**, 135–166.
51. Moskaug JO, Carlsen H, Myhrstad CW, *et al.* (2005) Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nut* **81**, 277-283.
52. Elokda AS & Nielsen DH (2007) Effects of exercise training on the glutathione antioxidant system. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **14**, 630-637.
53. Arent SM, Senso M, Golem DL, *et al.* (2010) The effects of theaflavin enriched black tea extract on muscle soreness, oxidative stress, inflammation, and endocrine responses to acute

- anaerobic interval training: a randomized, double-blind, crossover study. *J Int Soc Sports Nutr* **7**, 1-10.
54. Wiecek M, Maciejczyk M, Szymura J, *et al.* (2015) Changes in Non-Enzymatic Antioxidants in the Blood Following Anaerobic Exercise in Men and Women. *PLoS One* **10**, 1-16.
55. Demirbag R, Yilmaz R, Güzel S, *et al.* (2006) Effects of treadmill exercise test on oxidative/antioxidative parameters and DNA damage. *Anatol J Cardiol* **6**, 135-140.
56. Slattery K, Bentley D & Coutts AJ (2015) The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training. *Sports Med* **45**, 453-471.
57. Cardoso AL, De Liz, S, Venske DKR, *et al.* (2018) An Update on the Biological Activities of *Euterpe edulis* (Juçara). *Planta Med* **84**, 1-10, 2018.
58. Prior RL, Gu L, Wu X, *et al.* (2007) Plasma Antioxidant Capacity Changes Following a Meal as a Measure of the Ability of a Food to Alter In Vivo Antioxidant Status. *J Am Coll Nutr* **26**, 170-181.
59. Rivero-Pérez MD, Muñiz P & Gonzalez-Sanjosé ML (2007) Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. *J Agric Food Chem* **55**, 5476-5483.
60. Manach C, Williamson G, Morand C, *et al.* (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* **81**, 230-242.
61. Nieman DC, Gillitt ND, Sha W, *et al.* (2015) Metabolomics-based analysis of banana and pear ingestion on exercise performance and recovery. *J Proteome Res*, **14**, 5367-5377.
62. Kay, CD (2006) Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. *Nutri Res Rev* **19**, 137-146.

63. Jensen GS, Wu X, Patterson KM, *et al.* (2008) *In vitro* and *in vivo* antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. *J Agric Food Chem* **56**, 8326-8333.
64. Mertens-Talcott SU, Rios J, Jilma-Stohlawetz P, *et al.* (2008) Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich acai juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. *J Agric Food Chem* **56**, 7796-7802, 2008.
65. Del Bó C, Riso P, Campolo J, *et al.* (2013) A single portion of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers. *Nutr Res* **33**, 220-227.
66. Gonçalves MC, Bezerra FF, Eleutherio EC, *et al.* (2011) Organic grape juice intake improves functional capillary density and post occlusive reactive hyperemia in triathletes. *Clinics* **66**, 1537-1541.
67. Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn DE, *et al.* (2001) Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* **74**, 418-425.
68. Castaneda-Ovando A, de Lourdes Pacheco-Hernández M, Páez-Hernández ME, *et al.* (2009) Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem* **113**, 859-871.
69. Mastludis A, Morrow JD, Hopkins DW, *et al.* (2004) Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med* **36**, 1329-1341.
70. Rietjens SJ, Beelen M, Koopman R, *et al.* (2007) A single session of resistance exercise induces oxidative damage in untrained men. *Med Sci Sports Exerc* **39**, 2145-2151.

71. Waring WS, Convery A, Mishra V, *et al.* (2003). Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci* **105**, 425-430.
72. Fabbrini E, Serafini M, Colic BI, *et al.* (2014) Effect of plasma uric acid on antioxidant capacity, oxidative stress, and insulin sensitivity in obese subjects. *Diabetes* **63**, 976-981.
73. Toscano LT, Tavares RL, Toscano L, *et al.* (2015) Potential ergogenic activity of grape juice in runners. *Appl Physiol Nutr Metab* **40**, 899-906.
74. McCormick R, Peeling P, Binnie M, *et al.* (2016) Effect of tart cherry juice on recovery and next day performance in well-trained Water Polo players. *J Int Soc Sports Nutr* **13**, 1-8.
75. Ogonovszky H, Berkes I, Kumagai S, *et al.* (2005) The effects of moderate-, strenuous- and over-training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. *Neurochem Int* **46**, 635-640.
76. Farney TM, Mccarthy CG, Canale RE, *et al.* (2012) Absence of blood oxidative stress in trained men after strenuous exercise. *Med Sci Sports Exerc* **44**, 1855-1863.
77. Fisher G, Schwartz DD, Quindry J, *et al.* (2011) Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise. *J Appl Physiol* **110**, 730-737.
78. Bogdanis GC, Stavrinou P, Fatouros IG, *et al.* (2013) Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol* **61**, 171-177.
79. Pilaczynska-Szczesniak L, Skarpanska-Steinborn A, Deksur E, *et al.* (2005) The influence of chokeberry juice supplementation on the reduction of oxidative stress resulting from an incremental rowing ergometer exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **15**, 48-58.

80. Mathison BD, Kimble LL, Kaspar KL, *et al.* (2014) Consumption of cranberry beverage improved endogenous antioxidant status and protected against bacteria adhesion in healthy humans: A randomized controlled trial. *Nutr Res* **34**, 420-427.
81. Fernández-Pachón MS, Berná G, Otaolaurruchi E, *et al.* (2009) Changes in antioxidant endogenous enzymes (activity and gene expression levels) after repeated red wine intake. *J Agric Food Chem* **57**, 6578-6583.
82. Cimen MY (2008) Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin Chim Acta* **390**, 1-11.
83. Kaneyuki TY, Noda MG, Traber A, *et al.* (1999) Superoxide anion and hydroxyl radical scavenging activities of vegetable measured using electron spin resonance. *Biochem Mol Biol Int* **47**, 979-989.
84. Inal M, Akyuz F, Turgut A, *et al.* (2001) Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Med Sci Sports Exerc* **33**, 564-567.
85. Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, *et al.* (2007) Sampling Time is Crucial for Measurement of Aerobic Exercise–Induced Oxidative Stress. *Med Sci Sports Exerc* **39**, 1107-1113.
86. Toufektsian M, Lorgeril MD, Nagy N, *et al.* (2008) Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. *J Nutr* **138**, 747-752.
87. Ammar A, Chtourou H, Hammouda O, *et al.* (2015) Acute and delayed responses of C-reactive protein, malondialdehyde and antioxidant markers after resistance training session in elite weightlifters: Effect of time of day. *Chronobiol Int* **32**, 1211-1222.
88. Borges GSC, Vieira FGK, Copetti C, *et al.* (2011) Optimization of extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. *Food Res Int* **44**, 708-715.

89. Powers SK, Nelson WB & Hudson MB (2011) Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radic Biol Med* **51**, 942-950.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

É evidente o interesse emergente acerca de estudos envolvendo o fruto juçara pelo seu alto valor nutricional, com destaque para suas propriedades antioxidantes e, mais especificamente, pelo seu conteúdo de antocianinas. Considerando ainda a importância do fruto juçara frente ao bioma da Mata Atlântica, visto que a palmeira *Euterpe edulis* Martius, da qual obtém-se o fruto juçara encontra-se em risco de extinção, estratégias que visam incentivar seu consumo são necessárias. Além disso, há evidências científicas de que o consumo de alimentos ricos em antocianinas, como o fruto juçara, pode oferecer proteção antioxidante no exercício.

Na pesquisa realizada, o suco de juçara diminuiu o parâmetro IEO imediatamente após o exercício e aumentou os parâmetros GSH e a relação GSH:GSSG 1h após o exercício comparado ao grupo controle. Ainda, observou-se que a ingestão do suco de juçara aumentou as concentrações de fenóis totais e ácido úrico ao longo do tempo, indicando que o consumo do suco de juçara pode contribuir para as respostas antioxidantes e, possivelmente, na recuperação após o exercício. No entanto, indivíduos fisicamente ativos que desejam consumir o suco de juçara com a finalidade de recuperação durante a intensificação dos períodos de treinamento, onde o grau de estresse oxidativo tende a ser maior, precisam equilibrar o objetivo de promover a recuperação de sessões de treinamento com a atenuação da sinalização redox induzida pelo exercício, necessária às adaptações fisiológicas ao exercício.

Futuras pesquisas devem examinar o uso do suco de juçara por um maior período de intervenção, em diferentes doses e que incluam a utilização de placebo, bem como em outras condições de exercício, a fim de investigar possíveis alterações nestes e em outros parâmetros bioquímicos, fisiológicos, bem como avaliar a recuperação e desempenho do exercício.

Assim, a valorização de uma fonte alimentar rica em antioxidantes ainda pouco estudada em humanos e presente na região de estudo pode ser promissora no âmbito científico, socioeconômico, ambiental e nutricional.

REFERÊNCIAS

ALESSIO, H. M.; HAGERMAN, A. E.; FULKERSON, B. K. et al. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 32, n. 9, p. 1576-1581, 2000.

AMMAR, A.; CHTOUROU, H.; HAMMOUDA, O. et al. Acute and delayed responses of C-reactive protein, malondialdehyde and antioxidant markers after resistance training session in elite weightlifters: Effect of time of day. **Chronobiology Internacional**, v. 32, n. 9, p. 1211-1222, 2015.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, v. 350, n. 1, p. 103-108, 1996.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**, 18a. Washington, DC [s.n]. 2005.

ARENT, S. M.; SENSO, M.; GOLEM, D. L. et al. The effects of theaflavin enriched black tea extract on muscle soreness, oxidative stress, inflammation, and endocrine responses to acute anaerobic interval training: a randomized, double-blind, crossover study. **Journal of the Internacional Society Sports Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2010.

BAKER, J. S.; BAILEY, D. M.; HULLIN, D. et al. Metabolic implications of resistive force selection for oxidative stress and markers of muscle damage during 30 s of high intensity exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 92, n. 3, p. 321-327, 2004.

BELL, P. G.; MCHUGH, M. P.; STEVENSON, E. et al. The role of cherries in exercise and health. **The Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 24, n. 3, p. 477-490, 2013.

BELL, P. G.; WALSH, I. H.; DAVISON, G. W. et al. Montmorency Cherries Reduce the Oxidative Stress and Inflammatory Responses to Repeated Days High-Intensity Stochastic Cycling. **Nutrients**, v. 6, n. 2, p. 829-843, 2014.

BELL, P. G.; WALSH, I. H.; DAVISON, G. W. et al. Recovery facilitation with Montmorency cherries following high-intensity, metabolically challenging exercise. **Applied Physiology Nutrition and Metabolism**, v. 40, n. 4, p. 414-423, 2015.

BELL, P. G.; STEVENSON, E.; DAVISON, G. W. et al. The Effects of Montmorency Tart Cherry Concentrate Supplementation on Recovery Following Prolonged, Intermittent Exercise. **Nutrients**, v. 8, n. 7, p. 1-11, 2016.

BENVENUTI, S.; PELLATI, F.; MELEGARI, M. et al. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 3, p.164-169, 2004.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BICUDO, M. O.; RIBANI, R. H.; BETA, T. Anthocyanins, phenolic acids and antioxidant properties of Juçara fruits (*Euterpe edulis* M.) along the on-tree ripening process. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 142-147, 2014.

BLOOMER, R. J. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. **Advances in Clinical Chemistry**, v. 46, p. 1-50, 2008.

BLOOMER, R. J.; DAVIS, P. G.; CONSITT, L. A. et al. Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. **International Journal of Sports Medicine**, v. 28, n. 1, p. 21-25, 2007.

BLOOMER R. J. The role of nutritional supplements in the prevention and treatment of resistance exercise-induced skeletal muscle injury. **Sports Medicine**, v. 37, n. 6, p. 519-532, 2007.

BLOOMER, R. J.; GOLDFARB, A. H.; WIDEMAN, L. et al. Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. **Sports Medicine**, v. 19, n. 2, p. 276-285, 2005.

BLOOMER, R. J.; GOLDFARB, A. H. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. **The Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 29, n. 3, p. 245-263, 2004.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 3ª edição. São Paulo: Varela, 2001.

BOGDANIS, G. C.; NEVILL, M. E.; BOOBIS, L. H. et al. Contribution of phosphocreatine and aerobic metabolism to energy supply during repeated sprint exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 80, n. 3, p. 876-884, 1996.

BOGDANIS, G. C.; STAVRINOU, P.; FATOUROS, I. G. et al. Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. **Food and Chemical Toxicology**, v. 61, p. 171-177, 2013.

BORGES, G. S. C. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de frutos de jussara (*Euterpe edulis*)**. 2010. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

BORGES, G. S. C. **Determinação de compostos bioativos e avaliação da atividade antioxidante das diferentes frações dos frutos de juçara (*Euterpe edulis* Mart.) cultivados no estado de Santa Catarina**. 2013. 165 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

BORGES, G. S. C.; GONZAGA, L. V.; JARDINI, F. A. et al. Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC-ESI-MS/MS. **Food Research Internacional**, v. 51, p. 363-369, 2013.

BORGES, G. S. C.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C. et al. Optimization of extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. **Food Research Internacional**, v. 44, n. 3, p. 708-715, 2011.

BOWTELL, J. L.; SUMNERS, D. P.; DYER, A. et al. Montmorency Cherry Juice Reduces Muscle Damage Caused by Intensive Strength

Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 8, p. 1544-1551, 2011.

BRAAKUIS, 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, 2014.

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

BRASIL. **Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012**, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº01, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de açaí**, 2000.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014**, 014.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours - Selected aspects. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1-2, p. 103-109, 1997.

BROUILLARD, R. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982.

BROWNER, W. S.; NEWMAN, T. B.; HULLEY, S. B. **Estimando o Tamanho da Amostra e o Poder Estatístico: Aplicações e Exemplos**. In: HULLEY, S. B. *Delineando a Pesquisa Clínica*. Porto Alegre: Artmed, 2008, p. 83-86.

BURGOMASTER, K. A.; CERMAK, N. M.; PHILLIPS, S. M. et al. Divergent response of metabolite transport proteins in human skeletal muscle after sprint interval training and detraining. **The American Journal of Physiology**, v. 292, n. 5, p. 1970-1976, 2007.

BURGOMASTER, K. A.; HOWARTH, K. R.; PHILLIPS, S. M. et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. **The Journal of Physiology**, v. 586, n. 1, p. 151-160, 2008.

BURGOMASTER, K. A.; HUGHES, S. C.; HEIGENHAUSER, G. J. et al. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 6, p. 1985-1990, 2005.

BURGOMASTER, K. A.; HEIGENHAUSER, G. J.; GIBALA, M. J. Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time-trial performance. **Journal of Applied Physiology**, v. 100, n. 6, p. 2041-2047, 2006.

CALLEGARI, P. **Extração da polpa de açaí a partir dos frutos do palmito (*Euterpe edulis* Martius) na Mata Atlântica**. 2003. Trabalho de Conclusão (Curso de Agronomia), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

CARDOSO, A. L.; DE LIZ, S.; VENSKE, D. K. R. et al. An Update on the Biological Activities of *Euterpe edulis* (Juçara). **Planta Medica**, v. 84, n. 8, p. 1-10, 2018.

CARDOSO, A. L.; DI PIETRO, P. F.; VIEIRA, F. G. K. et al. Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 152-162, 2015.

CARDOSO, A. L. **Efeito do consumo agudo do fruto juçara (*Euterpe edulis*) nos biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis**. 2013. 107 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

CARLSEN, M. H.; HALVORSEN, B. L.; HOLTE, K. et al. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. **Nutrition Journal**, v. 9, n. 3, p. 2-11, 2010.

CAROCHO, M.; FERREIEA, I. C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds,

screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15-25, 2012.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.

CARVALHO-PEIXOTO, J.; MOURA, M. R.; CUNHA, F. A. et al. Consumption of açai (*Euterpe Oleracea* Martius) functional beverage reduces muscle stress and improves effort tolerance in elite athletes: a randomized controlled intervention study. **Applied Physiology Nutrition and Metabolism**, v. 40, n. 7, p. 725-733, 2015.

CASTANEDA-OVANDO, A.; DE LOURDES PACHECO-HERNÁNDEZ, M.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, 113, n. 4, p. 859-871, 2009.

CASTRO, C. A.; NATALI, A. J.; CARDOSO, L. M. et al. Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara acai (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 3, p. 285-294, 2014.

CHAIMSOHN, F. P.; CHIQUETTO, N. C. Construção do marco legal para a produção de açai de juçara: contribuições da “oficina interestadual sobre legislação, comercialização e marketing para exploração de frutos da palmeira juçara”. **Revista Conexão**, v. 9, n. 2, p. 245-253, 2013.

CHELIKANI, P.; FITA, I.; LOEWEN, P. C. Diversity of structures and properties among catalases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 61, n. 2, p. 192-208, 2004.

CHILDS, A. C.; JACOBS, C.; KAMINSKI, T. et al. Supplementation with vitamin C and N-acetylcysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 6, p. 745-753, 2001.

CINGI YIRÜN, M.; ÜNAL, K.; ALTUNSOY SEN, N. et al. Evaluation of Oxidative Stress in Bipolar Disorder in terms of Total Oxidant Status,

Total Antioxidant Status, and Oxidative Stress Index. **Archives of Neuropsychiatry**, v. 53, n. 3, p. 194-198, 2016.

CONNOLLY, D. A.; McHUGH, M. P.; PADILLA-ZAKOUR, O. I. et al. Efficacy of a tart cherry juice blend in preventing the symptoms of muscle damage. **British Journal of Sports Medicine**, v. 40, n. 8, p. 679-683, 2006.

COSTA, E. A. D.; GONÇALVES, C.; MOREIRA, S. R. et al. Produção de polpa e sementes de palmeira juçara: alternativa de renda para a mata atlântica. **Tecnologia & Inovação Agropecuária**, p. 61-66, 2008.

COYLE, E. F. Very intense exercise-training is extremely potent and time efficient: a reminder. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 6, p. 1983-1984, 2005.

CIMEN, M. Y. Free radical metabolism in human erythrocytes. **Clinica Chimica Acta**, v. 390, n.1-2, p. 1-11, 2008.

DAVIES, K. J.; QUINTANILHA, A. T.; BROOKS, G. A. et al. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 107, n. 4, p. 1198-1205, 1982.

DEL BÓ, C.; MARTINI, D.; PORRINI, M. et al. Berries and oxidative stress markers: an overview of human intervention studies. **Food & Function**, v. 6, n. 9, p. 2890-2917, 2015.

DEL BÓ, C.; RISO, P.; CAMPOLO, J. et al. A single portion of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers. **Nutrition Research**, v. 33, n. 3, p. 220-227, 2013.

DEMİNICE, R.; TRINDADE, C. S.; DEGIOVANNI, G. C. et al. Oxidative stress biomarkers response to high intensity interval training and relation to performance in competitive swimmers. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 50, n. 3, p. 356-362, 2010.

DEMIRBAG, R.; YILMAZ, R.; GÜZEL, S. et al. Effects of treadmill exercise test on oxidative/antioxidative parameters and DNA damage. **Anatolian Journal of Cardiology**, n. 2, p. 135-140, 2006.

DILLARD, C. J.; LITOV, R. E.; SAVIN, W. M. et al. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. **Journal of Applied Physiology**, v. 45, n. 6, p. 927-932, 1978.

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

ELOKDA, A. S.; NIELSEN, D. H. Effects of exercise training on the glutathione antioxidant system. **European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation**, v. 14, n. 5, p. 630-637, 2007.

EMBRAPA – CNPF. **Zoneamento ecológico para plantios florestais no Estado de Santa Catarina**. Curitiba, 1998.

EPAGRI. **Zoneamento agroecológico e socioeconômico do Estado de Santa Catarina**. 1998. Disponível em:
<<http://www.epagri.rctsc.br/zoneamentoagroambiental>>. Acesso em: 12 janeiro 2017.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1103-1111, 2005.

EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 277-285, 2004.

FABBRINI, E.; SERAFINI, M.; COLIC, B. I. et al. Effect of plasma uric acid on antioxidant capacity, oxidative stress, and insulin sensitivity in obese subjects. **Diabetes**, v. 63, n. 3, p. 976-981, 2014.

FALCÃO, L. D.; BARROS, D. M.; GAUCHE, C. et al. Copigmentação intra e intermolecular de antocianinas: uma revisão. **Boletim CEPPA, Curitiba**, v. 21, n. 2, p. 351-366, 2003.

FANTINI, A. C.; RIBEIRO, R. J.; GURIES, R. P. **Produção de palmito (*Euterpe edulis* Martius – *Arecaceae*) na Floresta Ombrófila Densa: potencial, problemas e possíveis soluções**. Sellowia: Anais Botânicos do Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí. v. 49-52, p. 256-280, 2000.

FARNEY, T. M.; MCCARTHY, C. G.; CANALE, R. E. et al. Absence of blood oxidative stress in trained men after strenuous exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 44, n. 10, p. 1855-1863, 2012.

FELZENSZWALB, I.; MARQUES, M. R. C.; MAZZEI, J. L. et al. Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: A potential superfruit to be considered. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 536-544, 2013.

FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; BERNÁ, G.; OTAOLAURRUCHI, E. et al. Changes in antioxidant endogenous enzymes (activity and gene expression levels) after repeated red wine intake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6578-6583, 2009.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **RAMB**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, L. F.; REID, M. B. Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. **The Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 3, p. 853-860, 2008.

FINAUD, J.; SCISLOWSKI, V.; LAC, G. et al. Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season. **International Journal of Sports Medicine**, v. 27, n. 2, p. 87-93, 2006.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. **Sports Medicine**, v. 36, n. 4, p. 327-358, 2006.

FINKEL, T. Oxygen radicals and signaling. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 10, n. 2, p. 248-253, 1998.

FINKEL, T. Oxidant signals and oxidative stress. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 15, n. 2, p. 247-254, 2003.

FISHER-WELLMAN, K.; BLOOMER, R. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. **Dynamic Medicine**, v. 8, n. 1, p. 1-25, 2009.

FISHER, G.; SCHWARTZ, D. D.; QUINDRY, J. et al. Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-

intensity interval exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 110, n. 3, p. 730-737, 2011.

FOX, E. L.; BARTELS, R. L.; BILLINGS, C. E. et al. Intensity and distance of interval training programs and changes in aerobic power. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 5, n. 1, p. 18-22, 1973.

FRANCIS, F. J. Food Colorants: anthocyanins. **Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

FUNES, L.; CARRECA-QUINTANAR, L.; CERDÁN-CALERO, M. et al. Effect of lemon verbena supplementation on muscular damage markers, proinflammatory cytokines release and neutrophils' oxidative stress in chronic exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 4, p. 695-705, 2011.

FUSTER-MUÑOZ, E.; ROCHE, E.; FUNES, L. et al. Effects of pomegranate juice in circulating parameters, cytokines, and oxidative stress markers in endurance-based athletes: A randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 32, n. 5, p. 539-545, 2016.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F. et al. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 29, n. 11, p. 1106-1114, 2000.

GIBALA, M. J.; MCGEE, S. L.; GARNHAM, A. P. et al. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1alpha in human skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, n. 3, p. 929-934, 2009.

GIBALA, M. J.; LITTLE, J. P.; MACDONALD, M. J. et al. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. **The Journal of Physiology**, v. 590, n. 5, p. 1077-1084, 2012.

GIBALA, M. J.; LITTLE, J. P.; VAN ESSEN, M. et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. **The Journal of Physiology**, v. 575, n. 3, p. 901-911, 2006.

GIBALA, M. J.; MCGEE, S. L. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 36, n. 2, p. 58-63, 2008.

GIUSTARINI, D.; DALLE-DONNE, I.; MILZANI, A. et al. Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide. **Nature Protocols**, v. 8, n. 9, p. 1660-1669, 2013.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In R. E. Wrolstald (Ed.), **Current Protocols in Food Analytical Chemistry** (pp. 1–13). NewYork: JohnWiley and Sons, 2001.

GOLDFARB, A. H.; GARTEN, R. S.; CHO, C. et al. Effects of a fruit/berry/vegetable supplement on muscle function and oxidative stress. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 3, p. 501-508, 2011.

GOMEZ-CABRERA, M. C.; SALVADOR-PASCUAL, A.; CABO, G. et al. Redox modulation of mitochondriogenesis in exercise. Does antioxidant supplementation blunt the benefits of exercise training? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 86, p. 37-46, 2015.

GONÇALVES, M. C.; BEZERRA, F. F.; ELEUTHERIO, E. C. et al. Organic grape juice intake improves functional capillary density and post occlusive reactive hyperemia in triathletes. **Clinics**, v. 66, n. 9, p. 1537-1541, 2011.

GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**, v. 53, suppl 1, p. 110-118, 2004.

GROUSSARD, C. F.; RANNOU-BEKONO, F.; MACHEFER, G. et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 89, n. 1, p. 14-20, 2003.

HAKALA, M.; LAPVETELÄINEN, A.; HUOPALAHTI, R. et al. Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. **Journal Food Compost Anal**, v. 16, p. 67-80, 2003.

HAKKINEN, S. H.; TORRONEN, A. R. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 517-524, 2000.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 33-50, 1996.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, p. 312-322, 2006.

HALLIWELL, B.; GUITTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3ª edição. New York: Oxford Science Publications, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and Medicine**. 4ª edição. Oxford University Press, 2007.

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

HAMMOUDA, O.; CHTOUROU, H.; CHAHED, H. et al. High intensity exercise affects diurnal variation of some biological markers in trained subjects. **Internacional Journal of Sports Medicine**, v. 33, n. 11, p. 886-891, 2012.

HARBORNE, J. B.; GRAYER, R. J. **The anthocyanins**. London: Chapman and Hall, 1988, p. 1-20.

HARBORNE, J. B. **The flavonoids**: advanced in research since 1986. 5ª edição. New York: Champman and Hall, 1994.

HARMAN, D. The aging process. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 78, n. 11, p. 7124-7128, 1981.

HELLSTEN, Y. The role of xanthine oxidase in exercise. *In: Sen, C. K., Packer, L. Hanninen, O. (Eds.), Exercise and Oxygen Toxicity. Elsevier Science*, p. 211-234, 1994.

HELLSTEN, Y.; APPLE, F. S.; SJÖDIN, B. Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 81, n. 4, p. 1484-1487, 1996.

HENDERSON, A. **O gênero *Euterpe* no Brasil**. *In: M. S. Reis, & A. Reis. *Euterpe edulis* Martius – (Palmiteiro) biologia, conservação e manejo*, p. 1-22, Itajaí: Herbário, 2000.

HOLMBERG, O. The physics and chemistry of free radicals. **Medicine & Biology**, v. 62, n. 2, p. 68-70, 1984.

HOWATSON, G.; McHUGH, M. P.; HILL, J. A. 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.

HUDSON, M. B.; HOSICK, P. A.; McCAULLEY, G. O. et al. The effect of resistance exercise on humoral markers of oxidative stress. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 40, n. 3, p. 542-548, 2008.

HULLEY, S. B.; CUMMINGS, S.R.; BROWNER, W. S. et al. **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 2a Ed. Porto Alegre: Editora Artmed; 2003.

INADA, K. O. P.; OLIVEIRA, A. A.; REVOREDO, T. B.; et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422-433. 2015.

INAL, M.; AKYUZ, F.; TURGUT, A. et al. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 33, n. 4, p. 564-567, 2001.

INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRE (IPAQ). **Guidelines for Data Processing and Analysis of the**

International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) - Short Form, Version 2.0. April 2004.

JACKSON, M. J. An overview of methods for assessment of free radical activity in biology. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, n. 4, p. 1001-1006, 1999.

JACKSON, M. J. Exercise and oxygen radical production by muscle. *In: Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*, C. K. Sen, L. Packer, and O. Hanninen, (Eds.). Amsterdam: **Elsevier Science**, p. 57-68, 2000.

JAIN, P.; PAREEK, A.; RATAN, H. et al. Free Radicals and Dietary Antioxidants: A Potential Review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 13, n. 7, p. 34-48, 2013.

JENKINS, R. R. Free radical chemistry. Relationship to exercise. **Sports Medicine**, v. 5, n. 3, p. 156-170, 1988.

JENSEN, G. S.; WU, X.; PATTERSON, K. M. et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8326-8333, 2008.

JI, L. L. Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise. **Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine**, v. 222, n. 3, p. 283-292, 1999.

JI, L. L. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. **Exercise and Sport Sciences Review**, v. 23, p. 135-166, 1995.

JOHANSSON, L. H.; BORG, L. A. H. A spectofotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. **Analytical Biochemistry**, v. 174, n. 1, p. 331-336, 1988.

JONES, D. P. Radical-free biology of oxidative stress. **The American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 295, n. 4, p. 849-868, 2008.

JONES, D. P. Redefining Oxidative Stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006.

JÓWKO, E.; SACHARUK, J.; BALASNSKA, B. et al. Green tea extract supplementation gives protection against exercise-induced oxidative damage in healthy men. **Nutrition Research**, v. 31, n. 11, p. 813-821, 2011.

KÄHKÖNEN, M. P.; HEINONNEN, M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 51, p. 628-633, 2003.

KANEYUKI, T. Y.; NODA, M. G.; TRABER, A. et al. Superoxide anion and hydroxyl radical scavenging activities of vegetable measured using electron spin resonance. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 47, n. 6, p. 979-989, 1999.

KAY, C. D. Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. **Nutrition Research Reviews**, v. 19, n. 1, p. 137-146, 2006.

KING; YOUNG. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 50, n. 2, p. 213-218, 1999.

KONIG, D.; WAGNER, K. H.; ELMADFA, I. et al. Exercise and oxidative stress: significance of antioxidants with reference to inflammatory, muscular, and systemic stress. **Exercise Immunology Review**, v. 7, p. 108-133, 2001.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 4, p. 433-441, 2003.

KUNTZ, S.; KUNZ, C.; HERMANN, J. et al. Anthocyanins from fruit juices improve the antioxidant status of healthy young female volunteers without affecting anti-inflammatory parameters: results from the randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over ANTHONIA (ANTHOCyanins in Nutrition Investigation Alliance) study. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 6, p. 925-936, 2014.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LAWLER, J. M.; POWERS, S. K.; VISSER, T. et al. Acute exercise and skeletal muscle antioxidant and metabolic enzymes: effects of fiber type and age. **The American Journal of Physiology**, v. 265, p. 1344-1350, 1993.

LAWLER, J. M.; POWERS, S. K.; VAN DIJK, H. et al. Metabolic and antioxidant enzyme activities in the diaphragm: effects of acute exercise. **Respiration Physiology**, v. 96, n. 2-3, p. 139-149, 1994.

LEE, J.; GOLDFARB, A. H.; RESCINO, M. H. et al. Eccentric exercise effect on blood oxidative stress markers and delayed onset of muscle soreness. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 34, n. 3, p. 443-448, 2002.

LEVINE, R. L. GARLAND, D.; OLIVER, C. N. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol**, v. 186, p. 464-478, 1990.

LIMA M DOS, S.; DUTRA, M. C. P.; TOALDO, I. M. et al. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. **Food Chemistry**, v. 188, p. 384-392, 2015.

LIMA, V. L. A. G.; PINHEIRO, I. O.; NASCIMENTO, M. S. et al. Identificação de antocianidinas em acerolas do Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 927-935, 2006.

LITTLE, J. P.; SAFDAR, A.; WILKIN, G. P. et al. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. **The Journal of Physiology**, v. 588, p. 1011-1022, 2010.

LONGO, L.; VASAPOLLO, G. Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. **Food Chemistry**, v. 94, n. 2, p. 226-231, 2006.

LÓPEZ, O. P.; JIMÉNEZ, A. R.; VARGAS, F. D. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v. 40, n. 3, p.173-289, 2000.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M. et.al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LORENZI, H.; MELLO FILHO, L. E. **As plantas tropicais de R. Burle Max**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2001.

LOVLIN, R.; COTTLE, W.; PYKE, I. et al. Are indices of free radical damage related to exercise intensity. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 56, n. 3, p. 313–316, 1987.

LÜ, J. M.; LIN, P. H.; YAO, Q. et al. Chemical and molecular mechanisms of experimental approaches and model systems. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 14, n. 4, p. 840-860, 2010.

MAC FADDEN, J. **A produção de açaí a partir do processamento dos frutos do palmito** (*Euterpe edulis* Martius) na Mata Atlântica. 2005. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

MACHEIX, J. J.; FLEURIT, A.; BILLOT, J. **Fruit Phenolics**. Boca Raton: CRC Press, 1990.

MAGALHÃES, J.; FERREIRA, R.; MARQUES, F. et al. Indoor climbing elicits plasma oxidative stress. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, n. 6, p. 955-963, 2007.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 1, 59-82, 2006.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. **Current Opinion in Lipidology**, v. 16, n. 1, p. 77-84, 2005.

MANACH, C.; WILLIAMSON, G.; MORAND, C. et al. Bioavailability and bioefficacy of Polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 230-242, 2005.

MARKAKIS, P. **Stability of anthocyanins in foods**. In: MARKAKIS, P. (Ed.) *Anthocyanins as Food Colors*. New York: Academic Press, 1982, p. 163-180.

MARZATICO, F.; PANSARASA, O.; BERTORELLI, L. et al. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 37, n. 4, p. 235-239, 1997.

MASTALOUDIS, A.; MORROW, J. D.; HOPKINS, D. W. et al. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, n. 10, p. 1329-1341, 2004.

MATHISON, B. D.; KIMBLE, L. L.; KASPAR, K. L. et al. Consumption of cranberry beverage improved endogenous antioxidant status and protected against bacteria adhesion in healthy humans: A randomized controlled trial. **Nutrition Research**, v. 34, n. 5, p. 420-427, 2014.

MATSUDO, S.; ARAÚJO, T.; MATSUDO, V. et al. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Revista Atividade Física & Saúde**, v. 6, n. 2, p. 5-18, 2001.

MATSUDO, S. M.; MATSUDO, V. R.; ARAÚJO, T. et al. Nível de atividade física da população do Estado de São Paulo: análise de acordo com o gênero, idade, nível socioeconômico, distribuição geográfica e de conhecimento. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 10, n. 4, p. 41-50, 2002.

MAZZA, G.; KAY, C. D.; COTTREL, T. et al. Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 50, n. 26, p. 7731-7737, 2002.

McANULTY, S. R.; McANULTY, L. S.; NIEMAN, D. C. et al. Chronic quercetin ingestion and exercise-induced oxidative damage and inflammation. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 33, n. 2, p. 254-262, 2008.

McANULTY, L. S.; NIEMAN, D. C.; DUMKE, C. L. et al. Effect of blueberry ingestion on natural killer cell counts, oxidative stress, and inflammation prior to and after 2.5 h of running. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 36, n. 6, p. 876-884, 2001.

McANULTY, S. R.; HOSICK, P. A.; McANULTY, L. S. et al. Effect of pharmacological lowering of plasma urate on exercise-induced oxidative stress. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 32, n. 6, p. 1148-1155, 2007.

McBRIDE, J. M.; KRAEMER, W. J.; TRIPLETT-McBRIDE, T. et al. Effect of resistance exercise on free radical production. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 30, n. 1, p. 67-72, 1998.

McCLUNG, J. M.; JUDGE, A. R.; TALBERT, E. E. et al. Calpain-1 is required for hydrogen peroxide-induced myotube atrophy. **The American Journal of Physiology: Cell Physiology**, v. 296, n. 2, p. 363-371, 2009.

McCLUNG, J. M.; JUDGE, A. R.; POWERS, S. K. et al. p38 MAPK links oxidative stress to autophagy-related gene expression in cachectic muscle wasting. **The American Journal of Physiology: Cell Physiology**, v. 298, n. 3, p. 542-549, 2010.

McGINLEY, C.; SHAFAT, A.; DONNELLY, A. E. Does antioxidant vitamin supplementation protect against muscle damage? **Sports Medicine**, v. 39, n. 12, p. 1011-1032, 2009.

McCORMICK, R.; PEELING, P.; BINNIE, M. et al. Effect of tart cherry juice on recovery and next day performance in well-trained Water Polo players. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 13, n. 41, p. 1-8, 2016.

McLEAY, Y.; BARNES, M. J.; MUNDEL, T. et al. Effect of New Zealand blueberry consumption on recovery from eccentric exercise-induced muscle damage. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 19, p. 1-12, 2012.

- MELO, E. de A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G. et al. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 26, n. 3, p. 639-644, jul./set. 2006.
- MERTENS-TALCOTT, S. U.; RIOS, J.; JILMA-STOHLAWETZ, P. et al. Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich acai juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7796-7802, 2008.
- MICHAILIDIS, Y.; JAMURTAS, A. Z.; NIKOLAIDIS, M. G. et al. Sampling Time is Crucial for Measurement of Aerobic Exercise–Induced Oxidative Stress. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, n. 7, p. 1107-1113, 2007.
- MILANOVIĆ, Z.; SPORIŠ, G.; WESTON, M. Effectiveness of high-intensity interval training (HIIT) and continuous endurance training for VO_{2max} improvements: a systematic review and meta-analysis of controlled trials. **Sports Medicine**, v. 45 p. 1469-1481, 2015.
- MOSKAUG, J. O.; CARLSEN, H.; MYHRSTAD, C. W. et al. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 81, p. 277-283, 2005.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, 2004.
- NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Journal of Nutrition**, Boca Raton, v. 29, n. 4, p. 273-300, 1990.
- NARAYAN, M. S.; NAIDU, K. A.; RAVISHANKAR, G. A. et al. Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and nonenzymatic lipid peroxidation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 60, n. 1, p. 1-4, 1999.
- NIEMAN, D. C.; GILLITT, N. D.; SHA, W. et al. Metabolomics-based analysis of banana and pear ingestion on exercise performance and recovery. **Journal of Proteome Research**, v. 14, n. 12, p. 5367–5377, 2015.
- NIJVELDT, R. J.; VAN NOOD, E.; VAN HOORN, D. E. et al. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential

applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418-425, 2001.

NOGUEIRA, O. L.; HOMMA, A. K. O. **Análise econômica de sistemas de manejo de açaizais nativos no estuário amazônico**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1998. 38p. (Documento, 128).

NORDBERG, J.; ARNÉR, E. S. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 11, p. 1287-1312, 2001.

OGONOVSKY, H.; BERKES, I.; KUMAGAI, S. et al. The effects of moderate-, strenuous- and over-Training on oxidative stress markers, DNA repair, and memory, in rat brain. **Neurochemistry International**, v. 46, n. 8, p. 635-640, 2005.

OLIVEIRA, M. do S. P.; FARIAS NETO, J. T.; SILVA, P. R. Açaí: Técnicas de Cultivo e Processamento. **Frutal Amazônia** 2007, Belém/PA, 2007.

PANZA, V. P.; DIEFENTHAELER, F.; TAMBORINDEGUY, A. C. et al. Effects of mate tea consumption on muscle strength and oxidative stress markers after eccentric exercise. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 8, p. 1370-1378, 2016.

PAROLIN, M. L. Regulation of skeletal muscle glycogen phosphorylase and PDH during maximal intermittent exercise. **The American Journal of Physiology**, v. 277, p. 890-900, 1999.

PATON, C. D.; HOPKINS, W. G. Effects of high-intensity training on performance and physiology of endurance athletes. **Sportscience**, v. 8, p. 25-40, 2004.

PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; O'DONNELL, C. et al. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 1, p. 311, 2010.

PEAKE, J. M.; SUZUKI, K.; COOMBES, J. S. The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 18, n. 6, p. 357-371, 2007.

PESKIN, A. V.; WINTERBOURN, C. C. A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1). **Clinica Chimica Acta**, v. 293, n. 1-2, p. 157-166.

PETERNELJ, T. T.; COOMBES, J. Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? **Sports Medicine**, v. 41, n. 12, p. 1043-1069, 2011.

PILACZYNSKA-SZCZESNIAK, L.; SKARPANSKA-STEINBORN, A.; DEKSUR, E. et al. The influence of chokeberry juice supplementation on the reduction of oxidative stress resulting from an incremental rowing ergometer exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 48-58, 2005.

PINHEIRO, A. B. V.; LACERDA, E. M. A.; BENZECRY, E. H. et al. **Tabela de avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. Rio de Janeiro: Atheneu, 5 ed, 2005.

PINHO, R. A.; ANDRADES, M. E.; OLIVEIRA, M. R. et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. **Cell Biology Internacional**, v. 30, n. 10, p. 848-843, 2006.

POJER, E.; MATTIVI, F.; JOHNSON, D. et al. The case for anthocyanin consumption to promote human health: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, p. 483-508, 2013.

POWERS, S. K.; NELSON, W. B.; HUDSON, M. B. et al. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 51, n. 5, p. 942-950, 2011.

POWERS, S. K.; DUARTE, J.; KAVAZIS, A. N. et al. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. **Experimental Physiology**, v. 95, n. 1, p. 1-9, 2010.

POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiological Reviews**, v. 88, p. 1243-1276, 2008.

POWERS, S. K.; TALBERT, E. E.; ADHIHETTY, P. J. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 589, p. 2129-2138, 2011.

PRIOR, R. L.; GU, L.; WU, X. et al. Plasma Antioxidant Capacity Changes Following a Meal as a Measure of the Ability of a Food to Alter In Vivo Antioxidant Status. **The Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. 2, p. 170-181, 2007.

PUCHAU, B.; ZULET, M. A.; DE ECHÁVARRI, A. G. et al. Dietary total antioxidant capacity: a novel indicator of diet quality in healthy young adults. **The Journal of the American College of Nutrition**, v. 28, n. 6, p. 648-656, 2009.

PVOA FILHO, H. **Antioxidantes**. In: Pvoa, H. Radicais Livres: em Patologia Humana. Rio de Janeiro: Imago, 1995, p. 211-246.

QUINDRY, J. C.; McANULTY, S. R.; HUDSON, M. B. et al. Oral quercetin supplementation and blood oxidative capacity in response to ultramarathon competition. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 18, n. 6, p. 601-616, 2008.

QUINDRY, J. C. The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 35, n. 7, p. 1139-1145, 2003.

RADAK, Z. A.; TAYLOR, A. W.; OHNO, H. et al. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. **Exercise Immunology Review**, v. 7, p. 90-107, 2001.

RAKOBOWCHUK, M.; TANGUAY, S.; BURGOMASTER, K. A. et al. Sprint interval and traditional endurance training induce similar improvements in peripheral arterial stiffness and flow mediated, dilation in healthy humans. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 295, n. 1, p. 236-242, 2008.

REIS, A.; KAGEYAMA, P. Y. Dispersão de sementes de *Euterpe edulis* Martius Palmae. **Sellowia**, v. 45-48, p. 60-92, 2000.

REIS, M. S.; GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. et al. Distribuição geográfica e situação atual das populações na área de ocorrência de *Euterpe edulis* Martius. **Sellowia**, v. 49-52, p. 324-335, 2000.

REIS, M. S. dos; REIS, A. (eds.). ***Euterpe edulis Martius (palmitheiro) biologia, conservação e manejo***. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 2000, 335 p.

REITZ, R. **Palmeiras**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1974.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. **Projeto Madeira de Santa Catarina**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, p. 320, 1978.

RIETJENS, S. J.; BEELEN, M.; KOOPMAN, R. et al. A single session of resistance exercise induces oxidative damage in untrained men. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, n. 12, p. 2145-2151, 2007.

RISTOW, M.; ZARSE, K.; OBERBACH, A. et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 106, n. 21, p. 8665-8670, 2009.

RIVERO-PÉREZ, M. D.; MUÑIZ, P.; GONZALEZ-SANJOSÉ, M. L. Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5476-5483, 2007.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém: Ed. UFPA, 2000.

ROSS, R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 2, p. 115-126, 1999.

ROVER JR, L.; HOEHR, N. F.; VELLASCO, A. P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado à métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

SADOWSKA-KREPPA, E.; KLAPCINSKA, B.; PODGÓRSKI, T. et al. Effects of supplementation with açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry-based juice blend on the blood antioxidant defence capacity and lipid profile in junior hurdlers. A pilot study. **Biology of Sport**, v. 32, n. 2, v. 161-168, 2015.

SANTOS, A. J.; HILDEBRAND, E.; PACHECO, C. H. P. et al. Produtos não madeiros: conceituação, classificação, valoração e mercados. **Floresta**, v. 33, n. 2, p. 215-224, 2003.

SASTRE, J.; ASENSI, M.; GASCÓ, E. et al. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: Prevention by antioxidant administration. **American Journal of Physiology**, v. 32, n. 5, p. 992-995, 1992.

SATUÉ-GRACIA, M. T.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E. N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and Lecithinliposome systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 3362-3367, 1997.

SCANDAIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCHIFFL, C.; ZIERES, C.; ZANKL, H. Exhaustive physical exercise increases frequency of micronuclei. **Mutation Research**, v. 389, n. 2-3, p. 243-246, 1997.

SCHIRMANN, G. S. **Composição em ácidos graxos do açai (*Euterpe edulis*) de diversas regiões de Santa Catarina**. 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açai de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius e influência de diferentes métodos de pasteurização sobre o açai de *Euterpe edulis***. 2008. 54 f. Trabalho de Conclusão (Curso de Agronomia), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SCHULZ, M.; BORGES, G. S. C.; GONZAGA, L. V. et al. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, v. 77, p. 125-131, 2015.

SCHULZ, M.; BORGES, G. S. C.; GONZAGA, L. V. et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, p. 14-26, 2016.

SERAFINI, M.; MAIANI, G.; FERRO-LUZZI, A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 6, p. 1003-1007, 1998.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, n. 2, p. 291-295, 1997.

SIES, H; CADENAS, E. Oxidative Stress: Damage to Intact Cells and Organs. **Sciences**, v. 311, n. 1152, p. 617-631, 1985.

SILVA, J. L. V. F. **Análise econômica da produção e transformação em ARPP, dos frutos de *Euterpe edulis* Mart. em açaí no município de Garuva, Estado de Santa Catarina**. 2005. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

SILVA, M. G. P. C.; BARRETTO, W. S.; SERÔDIO, M. H. Comparação nutricional da polpa dos frutos de juçara e de açaí. *In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA*. Florianópolis, Santa Catarina, 22 a 26 de novembro de 2004. **Anais CD ROOM**, Florianópolis, SC, 2004.

SIMIC, M. G.; JAVANOVIC, S. V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. *In: HO, C. T., OSAWA, T., HUANG, T. M., ROSEN, R. T. (Ed.). Food phytochemicals for cancer prevention*. Washington: **American**

Chemical Society, v. 547, p. 20-33, 1994. (ACS Symposium Series, n. 546).

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SKARPANSKA-STEJNBORN, A.; BASTA, P.; PILACZYNSKA-SZCZESNIAK, L. et al. Black grape extract supplementation attenuates blood oxidative stress in response to acute exercise. **Biology of Sport**, v. 27, n. 1, p. 41-46, 2010.

SKUPIEŃ, K.; OSZMIĄŃSKI, J. Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in northwest Poland. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 1, p. 66-70, 2004.

SLATTERY, K.; BENTLEY, D.; COUTTS, A. J. The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training. **Sports Medicine**, v. 45, n. 4, p. 453-471, 2015.

SOUZA-SILVA, A. A.; MOREIRA, E.; MELO-MARINS, D. et al. High intensity interval training in the heat enhances exercise-induced lipid peroxidation, but prevents protein oxidation in physically active men. **Temperature**, v. 3, n. 1, p. 167-175, 2016.

STAHL, W.; SIES, H. **Oxidative Stress**. Institut für Biochemie und Molekularbiologie I, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, jan. 2012.

TIAN, Q.; GIUSTI, M. M.; STONER, G. D. et al. Screening for anthocyanins using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry with precursor-ion analysis, product-ion analysis, common-neutral-loss analysis, and selected reaction monitoring. **Journal of Chromatography A**, v. 1091, n. 1-2, p. 72-82, 2005.

TOALDO, I. M.; CRUZ, F. A.; ALVES, T. L. 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. 527-535, 2015.

TOSCANO, L. T.; TAVARES, R. L.; TOSCANO, L. et al. Potential ergogenic activity of grape juice in runners. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 40, n. 9, p. 899-906, 2015.

TOUFEKTSIAN, M.; LORGERIL, M. D.; NAGY, N. et al. Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 4, p. 747-752, 2008.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VIDAL, K.; ROBINSON, N.; IVES, S. J. Exercise performance and physiological responses: the potential role of redox imbalance. **Physiological Reports**, v. 5, n. 7, p. 1-15, 2017.

VIEIRA, G. S.; CAVALCANTI, R. N.; MEIRELES, A. A. et al. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 2, p. 196-204, 2013.

WANG, C. J.; WANG, J. M.; LIN, W. L. et al. Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 5, p. 411-416, 2000.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 304-309, 1997.

WARING, W. S.; CONVERY, A.; MISHRA, V. et al. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. **Clinical Science**, v. 105, n. 4, p. 425-430, 2003.

WATSON, T. A.; CALLISTER, R.; TAYLOR, R. D. et al. Antioxidant Restriction and Oxidative Stress in Short-Duration Exhaustive Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, p. 63-71, 2005.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 77, p. 325-333, 1981.

WIECEK, M.; MACIEJCZYK, M.; SZYMURA, J. et al. Changes in Non-Enzymatic Antioxidants in the Blood Following Anaerobic Exercise in Men and Women. **Plos One**, v. 10, n. 11, p. 1-16, 2015.

WISEMAN, H.; HALLIWELL, B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. **Biochemical Journal**, v. 313, p. 17-29, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The World Health Report: working together for health**. Geneva: World Health Organization, 2006.

WOOTTON-BEARD, P. C.; RYAN, L. Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. **Food Research International**, v. 44, n. 10, 2011.

YANG, Z.; ZHAI, W. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.) **Innovative Food Science & Emerging Technology**, v. 11, n. 1, p. 169-176, 2010.

YOUNGSON, R. **Como combater os radicais livres: o programa de saúde dos antioxidantes**. Rio de Janeiro: Campus, 1995.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiology Reviews**, v. 74, n. 1, p. 139-162, 1994.

ZABOTTO, C. B. **Registro fotográfico para inquéritos dietéticos**. UNICAMP, Campinas, 1996.

ZOUHAL, H.; RANNOU, F.; GRATAS-DELAMARCHE, A. et al. Adrenal Medulla Responsiveness to the Sympathetic Nervous Activity in Sprinters and Untrained Subjects During a Supramaximal Exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 19, n. 3, p. 172-176, 1998.

ZWETSLOOT, K. A.; JOHN, C. S.; LAWRENCE, M. M. et al. High-intensity interval training induces a modest systemic inflammatory response in active, young men. **Journal of Inflammation Research**, v. 7, p. 9-17, 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO DE INCLUSÃO

Questionário Clínico

Questionário Inclusão: **“Efeito do consumo agudo do suco de juçara (*Euterpe edulis* Martius) sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade: um ensaio clínico randomizado e *cross-over*”.**

Participante n°:

1.Nome:

2.Telefone:

3.E-mail:

4.Data de Nascimento:

5.Escolaridade:

() Analfabeto () 1º grau incompleto () 1º grau completo

() 2º grau incompleto () 2º grau completo () superior incompleto

() superior completo

6.Cor da pele: () Branco () Pardo () Amarelo () Negro

7.Fuma: Sim () Não () Parou há quanto tempo?

8.Quantos cigarros/dia:

9.Costuma ingerir bebida alcoólica? Sim () Não ()

10.Qual é a mais frequente? Dose:

11.Atividade física regular: Sim () Não ()

APÊNDICE B – ORIENTAÇÕES FORNECIDAS AOS PARTICIPANTES

ORIENTAÇÕES GERAIS

Orientações gerais quanto à alimentação durante o estudo. Seguir as orientações dietéticas descritas no quadro 1 (ver abaixo) durante as 48 horas precedentes as intervenções.

Quadro 1: Orientações dietéticas a serem seguidas durante as 48 horas precedentes as intervenções.

Gêneros alimentícios permitidos	Gêneros alimentícios permitidos com restrições	Gêneros alimentícios não permitidos
Carnes, aves, peixes, frutos do mar em geral, ovos.		
Produtos lácteos (leite, iogurte), queijos e ovos.	Produtos lácteos com frutas (sem frutas vermelhas).	Produtos lácteos com frutas (com frutas vermelhas).
Vegetais: batatas, mandioca, folhas verdes, pepino, abobrinha, lentilha, ervilhas, aipo, couve e cogumelos.	Vegetais: amarelo e verde, espinafre, couve-flor, brócolis e cebola (sem cebolas roxas). Frutas: banana, pêra, uva branca, pêssego, damasco, kiwi e abacaxi. De preferência descasque as frutas consumidas.	Vegetais: batata roxa, cenoura, tomate, repolho roxo, beterraba, rabanete, leguminosas (feijão preto e vermelho), berinjela, abóbora, cebola roxa. Frutas: mirtilos, amoras, morangos, framboesas, groselhas, cerejas, uvas vermelhas, romã, ameixas, melancia e açaí.

Pães, massas, arroz (não integrais).	Cereais matinais.	
Especiarias: sal, pimenta, vinagre branco, alho, mostarda e maionese.	Utilize temperos e especiarias com moderação.	Molho de tomate, ketchup e produtos de soja.
Doces: biscoitos, bolos, (sem chocolate escuro/ frutas vermelhas), açúcar.	Doces: geleia (sem frutas vermelhas).	Doces: doces, geleias, bolos, sorvetes e sobremesas com frutas vermelhas, chocolate, cacau em pó.
Bebidas: água com gás, água aromatizada, limonada.	Evite: chá preto, chá de frutas, chá verde, café e bebidas alcoólicas (cerveja, vinho e licor).	Coca-cola, vinho tinto.
	Permitido (por dia): uma xícara de chá, uma xícara de café, um copo de cerveja ou uma taça de vinho branco (sem vinho tinto).	

Adaptado de Cardoso, A. L., 2013 e Kuntz et al., 2014.

- Nos dias em que serão feitos os testes com exercício, o seu café da manhã será padronizado e ofertado pela equipe de coleta por volta de 2 horas antes do horário marcado para a primeira coleta sanguínea;
- Evitar a realização de exercícios físicos intensos, pelo menos, 48 horas antes dos testes.

APÊNDICE C – INSTRUÇÕES PARA O PREENCHIMENTO DO REGISTRO ALIMENTAR

REGISTRO ALIMENTAR

Como fazer: Anotar tudo o que comer e beber durante 3 dias não consecutivos (dois dias de semana e um dia de final de semana).

Atividades necessárias:

- 1) Marque o horário que ingeriu o alimento;
- 2) Marque o tipo de refeição (café da manhã, lanche, almoço, jantar);
- 3) Marque a quantidade que você comeu. Só o que realmente comeu, o que ficou no prato não deve ser marcado.
 - Frutas, pães, bolachas, doces duros (quantas fatias, pedaços ou unidades);
 - Arroz, macarrão, saladas, legumes, purês, carne picada ou moída, doce mole e outros (quantas colheres de sopa ou escumadeiras); feijão, sopas (quantas colheres de sopa ou conchas).
- 4) Marque o tipo de preparação (frito, cozido, assado ou ensopado);
- 5) Marque qual o pedaço de frango consumido (peito, coxa, asa, sobrecoxa);
- 6) Marque todo alimento que foi consumido fora do horário das refeições - BELISCOS
- 7) **Recomendamos que o registro ocorra mais próximo ou no momento do consumo.**

ATENÇÃO

Este registro é muito importante para o sucesso do seu atendimento, portanto procure ser o mais sincero e preciso possível.

Exemplo de registro:

Nome:

Data:

Dia da semana:

REGISTRO ALIMENTAR		
Horário e tipo de refeição	Alimento	Quantidade ingerida
Café da Manhã (07:30h)	Mamão Formosa	1 fatia média
	Pão Integral	2 fatias
	Queijo Mussarela	1 fatia média
	Leite Integral	1 xícara de chá
Lanche da Manhã (10:00h)	Banana Branca	1 unidade média
	Castanha do Pará	3 unidades
Almoço (12:30h)	Alface Crespa	2 folhas
	Tomate	3 rodelas
	Cenoura Crua	4 colheres de sopa
	Ralada	cheias
	Azeite de Oliva	1 colher de sobremesa
	Peito de Frango Grelhado	1 pedaço médio
	Arroz Integral	4 colheres de sopa
	Feijão Preto	cheias 1 concha média

Adaptado de Cardoso, A. L., 2013.

APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, segundo o Conselho Nacional de Saúde

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo título é **“Efeito do consumo agudo do suco de juçara (*Euterpe edulis* Martius) sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade: um ensaio clínico randomizado e *cross-over*”**.

Esta pesquisa está associada ao projeto de mestrado de Cândice Laís Knöner Copetti, do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

O fruto juçara é um alimento parecido com o açaí em aparência e sabor, é muito nutritivo e possui diversos benefícios à saúde, por ser rico em antioxidantes. Os antioxidantes auxiliam na prevenção de doenças, retardo do envelhecimento precoce, dentre outras funções. A proteção do organismo contra danos oxidativos depende de um sistema de defesa antioxidante, que pode ser produzido pelo próprio corpo ou obtido por meio da alimentação.

O aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) durante o exercício pode resultar em estresse oxidativo, porém a ocorrência deste depende de diversos fatores, dentre os quais, o tipo e a intensidade do exercício. Durante o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT, do inglês *high-intensity interval training*) o incremento no metabolismo energético e o consequente aumento na produção de EROs podem favorecer o estresse oxidativo.

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito do consumo único do suco de juçara sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo em indivíduos fisicamente ativos antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade.

O estudo envolverá duas etapas. Em uma das etapas você realizará uma sessão de HIIT 1h após o consumo de 250 mL de suco de juçara e na outra etapa, você realizará uma sessão de HIIT 1h após o consumo de 250 mL de água. Haverá um intervalo de sete dias entre as duas etapas.

As etapas e os procedimentos da pesquisa serão os seguintes:

- 1) Na semana anterior à primeira etapa da pesquisa, você deverá anotar tudo o que comeu e bebeu durante três dias inteiros, assim como nas 48h anteriores às intervenções;
- 2) Restrição do consumo de algumas frutas, vegetais, chás, bebidas alcoólicas, café e chocolate (conforme orientação dietética recebida por escrito) 48h antes das duas etapas;
- 3) Sete dias anteriores ao estudo você será familiarizado com o ciclismo na bicicleta ergométrica para completar um teste de potência máxima. O teste de potência máxima consistirá em um aquecimento de 3 minutos com carga de trabalho a 50 *watts* (W), seguido de um protocolo pelo qual a carga aumentará a uma taxa de 30 W por minuto até a exaustão voluntária. A potência máxima obtida durante o teste será utilizada para determinar a carga de trabalho para o protocolo de exercício durante as intervenções;
- 4) Jejum de 8 horas no dia anterior à primeira coleta sanguínea;
- 5) Não realizar exercício intenso nas 48h anteriores às duas etapas;
- 6) No dia da intervenção com o exercício será realizado um aquecimento de 3 minutos com carga de trabalho a 50 W, seguido por 7 séries de esforços de alta intensidade, as quais terão duração 60 segundos e carga de trabalho correspondente à 100% da potência pico obtida no teste inicial. Entre as séries será realizado intervalo de recuperação ativo com duração de 75 segundos e com intensidade de 30 W. A sessão terá duração aproximada de 17 minutos.
- 7) Serão coletados 8 mL de sangue por profissional devidamente treinado 1h antes do início do exercício (antes do consumo do suco de juçara ou

água), imediatamente após o término do exercício e 1h após o término exercício.

8) Verificação do peso, altura e composição corporal na semana posterior à última etapa;

Os riscos do presente estudo estão listados abaixo:

- Cansaço ou aborrecimento ao preencher o questionário para determinação do nível de atividade física e os registros alimentares;
- Possível desconforto ao restringir alimentos antioxidantes nas 48h prévias às duas etapas;
- Constrangimento ao realizar exames antropométricos;
- Cansaço ou desconforto ao realizar a sessão de HIIT;
- Possível desconforto com a ingestão do suco de juçara;
- Possível dor durante as coletas sanguíneas.

Os materiais utilizados nas coletas sanguíneas serão descartáveis. Para amenizar a dor serão usadas agulhas finas e, se possível, escalpes, cadeiras confortáveis próprias para a coleta de sangue. Se houver vermelhidão na pele após a coleta, compressas geladas poderão ser colocadas no local para amenizar a dor. O profissional que realizará a coleta será treinado e capacitado para tal procedimento.

Durante esta e todas as etapas do estudo, você estará sempre acompanhado por um dos pesquisadores, recebendo toda a assistência necessária ou estes acionarão pessoal competente para isso, a fim de diminuir quaisquer tipos de desconfortos que venham a ocorrer.

Com a realização da pesquisa espera-se a produção de novos conhecimentos científicos, que possibilitem conduzir a implementação de estratégias, mediante incentivo do consumo de frutas ricas em antioxidantes, que promovam diminuição do estresse oxidativo após o exercício, colaborando para melhor recuperação após o exercício.

Como forma de agradecimento por ter participado da pesquisa, você receberá os resultados dos seus exames laboratoriais de monitoramento do estado de saúde, assim como os resultados de seus dados antropométricos (peso, altura e composição corporal) sem custo algum. Além disso, após a finalização de toda a pesquisa, você receberá retorno com todos os resultados da pesquisa.

Garantimos que as informações fornecidas serão utilizadas apenas neste trabalho sem a identificação dos participantes. Os pesquisadores serão os únicos a ter acesso aos dados e tomarão todas as providências necessárias para manter o sigilo, porém, apesar de todos os esforços, o

sigilo pode eventualmente ser quebrado de maneira involuntária e não intencional (por exemplo, perda ou roubo de documentos, computadores, pendrive), cujas consequências serão tratadas nos termos da lei. Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, porém mostrarão apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição ou qualquer informação relacionada à sua privacidade.

Sua participação é voluntária, podendo desistir a qualquer momento do estudo, sem qualquer consequência para você.

Você não terá nenhuma despesa advinda da sua participação na pesquisa. Caso alguma despesa extraordinária associada à pesquisa venha a ocorrer, você será ressarcido nos termos da lei.

Caso você tenha algum prejuízo material ou imaterial em decorrência da pesquisa poderá solicitar indenização, de acordo com a legislação vigente e amplamente consubstanciada.

Caso tenha alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, favor entrar em contato com a pesquisadora Cândice Laís Knöner Copetti, através do telefone (47) 9-9963-5939, e-mail candice.lk@hotmail.com ou pessoalmente na rua João Melchiatedes, 48, Jardim Anchieta, Santa Mônica, 88037-710. Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC pelo telefone (48) 3721-6094, e-mail cep.propesc@contato.ufsc.br ou pessoalmente na rua Desembargador Vitor Lima, nº 222, 4º andar, sala 401, Trindade, 88050-400, Florianópolis, SC.

O pesquisador responsável, que também assina esse documento, compromete-se a conduzir a pesquisa de acordo com o que preconiza a Resolução 466/12 de 12/06/2012, que trata dos preceitos éticos e da proteção aos participantes da pesquisa.

Duas vias deste documento estão sendo rubricadas e assinadas por você e pelo pesquisador responsável. Guarde cuidadosamente a sua via, pois é um documento que traz importantes informações de contato e garante os seus direitos como participante da pesquisa.

Eu, _____,
RG _____ fui esclarecido sobre a pesquisa **“Efeito do consumo agudo do suco de juçara (*Euterpe edulis* Martius) sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade: um**

ensaio clínico randomizado e *cross-over*” e aceito participar livremente da mesma.

Florianópolis, ____ de _____ de 2017.

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

APÊNDICE E – NOTA DE IMPRENSA

Fruto juçara: Impacto do consumo único antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade - HIIT, do inglês *high-intensity interval training*

O consumo único do suco de juçara exerceu proteção contra o estresse oxidativo após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade pelo aumento dos antioxidantes e redução do índice de estresse oxidativo

A palmeira *Euterpe edulis* Martius, também conhecida como palmito juçara, é frequentemente encontrada na Mata Atlântica, desde o sul da Bahia até o norte do Rio Grande do Sul. Devido à ação extrativista e corte indiscriminado de seu palmito, a regeneração natural está comprometida, já que a retirada do palmito culmina na morte da planta. Entretanto, a colheita do fruto juçara não exige seu corte e pode ser uma excelente alternativa do ponto de vista ambiental, econômico e nutricional.

O fruto juçara é um alimento semelhante com o açaí em aparência e sabor. É altamente nutritivo e pode proporcionar benefícios à saúde, em parte, devido à sua elevada atividade antioxidante, conferida principalmente pela presença antocianinas. As antocianinas são pigmentos encontrados em vegetais que apresentam cores que variam do vermelho intenso ao violeta e azul - coloração encontrada no fruto juçara. Diversos estudos sobre os efeitos do consumo de sucos, polpas ou frutos ricos em antocianinas, avaliados por meio de intervenções agudas ou prolongadas, têm mostrado resultados positivos, como, por exemplo, o aumento da atividade antioxidante.

Em condições fisiológicas, o organismo humano conta com um integrado sistema de defesa antioxidante, que pode ser produzido pelo próprio organismo ou obtido por meio da alimentação. Esse sistema age contra o excesso de espécies reativas de oxigênio que podem causar oxidação de biomoléculas, lesões teciduais, dentre outros prejuízos ao organismo.

Durante o exercício, o consumo de oxigênio para a produção de energia pode aumentar de 10 a 20 vezes em relação aos níveis de repouso, causando um aumento concomitante na produção de espécies reativas de oxigênio, que podem levar ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção e a remoção de espécies reativas, preponderando os pró-oxidantes sobre os antioxidantes. Estudos sugerem que o consumo de alimentos ricos em antocianinas, como o fruto

juçara, pode oferecer proteção antioxidante no exercício, independentemente da duração da intervenção.

Assim, com o objetivo de avaliar o efeito do consumo único do suco de juçara sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo em indivíduos fisicamente ativos antes e após uma sessão de HIIT, foi realizada uma pesquisa pela mestrande Cândice Laís Knöner Copetti, vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sob auxílio de bolsa da Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal e Nível Superior (CAPES). O estudo proposto foi orientado pela professora Dr^a Patricia Faria Di Pietro, coordenadora do Grupo de Estudos em Nutrição e Estresse Oxidativo (GENEO).

O estudo foi realizado com 15 voluntários do sexo masculino, com idades entre 21 a 28 anos e envolveu duas etapas com um intervalo de sete dias entre elas. Em uma das etapas os participantes do estudo realizaram uma sessão de HIIT 1h após o consumo de 250 mL de suco de juçara e na outra etapa, a sessão de HIIT foi realizada 1h após o consumo de 250 mL de água (bebida controle).

A partir de dosagens sanguíneas 1h antes do início da sessão de HIIT, imediatamente após o término da sessão de HIIT e 1h após o término da sessão de HIIT, evidenciou-se aumento do antioxidante não enzimático glutathione reduzida, da relação entre glutathione reduzida e glutathione oxidada e redução do índice de estresse oxidativo.

Desta forma, a valorização de uma fonte alimentar rica em antioxidantes ainda pouco estudada em humanos e presente na região de estudo pode ser promissora no âmbito científico, socioeconômico, ambiental e nutricional. Futuras pesquisas devem examinar o uso do suco de juçara por um maior período de intervenção, em diferentes doses, bem como em outras condições de exercício, a fim de investigar possíveis alterações nestes e em outros parâmetros bioquímicos, fisiológicos, bem como avaliar a recuperação e desempenho do exercício.

ANEXOS

ANEXO A – TERMO DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DA UFSC

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do consumo agudo do suco do fruto juçara (*Euterpe edulis Martius*) sobre biomarcadores do estresse oxidativo antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade: um ensaio clínico randomizado único cross-over

Pesquisador: Patricia Faria Di Pietro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71111617.2.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Universidade Federal de Santa Catarina

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.260.898

Apresentação do Projeto:

Trata o presente projeto, "Efeito do consumo agudo do fruto juçara (*Euterpe edulis Martius*) sobre biomarcadores do estresse oxidativo em indivíduos fisicamente ativos antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade: um ensaio clínico randomizado único cross-over", de uma pesquisa de mestrado de Cíndice Laia K. Copetti, submetido pela Prof. Patricia Faria Di Pietro, que assina a folha de rosto como pesquisador responsável juntamente com o Profa. Brunna Cristina Bremmer Boaventura, Subchefe do Departamento de Nutrição/CCSU/UFSC. Trata-se de um ensaio clínico randomizado, único, cross-over, com intervenção alimentar única, cujo objetivo é avaliar o efeito do consumo do suco do fruto juçara sobre a atividade antioxidante e biomarcadores do estresse oxidativo em indivíduos fisicamente ativos antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade (HIIT). A amostra será composta por 20 indivíduos do sexo masculino, com idade entre 19 e 30 anos e fisicamente ativos. Os critérios de exclusão são os seguintes: indivíduos sedentários, tabagistas, portadores de quaisquer doenças, processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos, lesões musculoesqueléticas recentes, usuários de suplementos vitamínicos e minerais, recursos ergogênicos (carnitina, arginina, creatina e cafeína), esteróides anabolizantes ou medicamentos e indivíduos que apresentarem resultados dos

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Praia Reitoria 8, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade CEP: 88.040-430
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-4094 E-mail: cep.pepesc@contins.ufsc.br

Contribuição de Parecer 2.280.888

exames laboratoriais de monitoramento do estado de saúde (ureia, creatinina, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, glicemia e perfil lipídico) fora dos limites de referência. O estudo é composto de duas etapas, com intervalo de 7 dias entre as mesmas: em uma etapa o voluntário realizará uma sessão de HIIT 1h após o consumo de 450 mL de água e na outra etapa realizará uma sessão de HIIT 1h após o consumo de 450 mL de suco de juçara. Em ambas as etapas serão feitas 3 coletas de sangue (1h antes da sessão de HIIT, imediatamente após a sessão de HIIT e 1h após a sessão de HIIT), sendo o mesmo utilizado para a avaliação de diversos parâmetros bioquímicos. O protocolo de exercício será realizado no Laboratório de Biomecânica do Centro de Desportos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Será também determinado: i) o nível de atividade física do participante através do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) na versão curta; ii) avaliação do estado nutricional; iii) avaliação da composição corporal por densitometria computadorizada; iv) avaliação da capacidade antioxidante total da dieta realizada através do registro alimentar.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

Avaliar o efeito do consumo agudo do suco do fruto juçara (*Euterpe edulis Martius*) sobre biomarcadores do estresse oxidativo em indivíduos fisicamente ativos antes e após uma sessão de exercício intervalado de alta intensidade.

Objetivos Específicos:

- 1) Avaliar o estado nutricional por meio do Índice de Massa Corporal (IMC);
- 2) Avaliar a composição corporal por meio da densitometria computadorizada por absorção radiológica de dupla energia (DXA);
- 3) Caracterizar a qualidade da dieta dos participantes utilizando o índice da capacidade antioxidante total da dieta (CATd);
- 4) Avaliar a capacidade antioxidante total, estado oxidante total sérico e glutatona reduzida eritrocitária;
- 5) Avaliar a atividade antioxidante enzimática por meio das dosagens de catalase, superóxido dismutase e glutatona peroxidase.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com o que foi citado no TCLE apresentado:

DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS: Os riscos do presente estudo estão listados abaixo:-

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-4094 E-mail: cep-propeq@contau.ufsc.br

Continuação de Parecer 2.185/2017

Censação ou aborrecimento ao preencher o questionário para determinação do nível de atividade física e os registros alimentares;- Possível desconforto ao restringir alimentos antioxidantes nas 48h prévias as duas etapas;- Constrangimento ao realizar exames antropométricos;- Censação ou desconforto ao realizar a sessão de HIT;- Possível desconforto com a ingestão do suco do fruto jupirani;- Possível dor durante a coleta sanguínea.

BENEFÍCIOS: Com a realização da pesquisa espera-se a produção de novos conhecimentos científicos, que possibilitem conduzir a implementação de estratégias, mediante incentivo do consumo de frutas ricas em antioxidantes, que promovam diminuição do estresse oxidativo após o exercício, colaborando para melhor recuperação após a atividade física.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pode contribuir para o conhecimento generalizável sobre o tema.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequada.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Considerando que todas as pendências indicadas na primeira versão desta solicitação foram devidamente atendidas e justificadas, não há nenhuma inadequação no presente processo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Typo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_955662.pdf	24/06/2017 19:05:38		Aceito
Outros	RESPOSTAS_AS_PENDENCIAS.pdf	24/06/2017 19:04:38	Cândida Leite Knörner Copetti	Aceito
TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCE.pdf	24/06/2017 19:04:10	Cândida Leite Knörner Copetti	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaração_Laboratorio_da_Pesquisa_e_m_Lipideos_Antioxidantes_Ateroclerosis.pdf	24/06/2017 19:03:43	Cândida Leite Knörner Copetti	Aceito

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vítor Lima, nº 222, sala 401
 Bairro: Trindade CEP: 88.015-400
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
 Telefone: (51)3721-8294 E-mail: cep.papeq@contata.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação da Parecer 2.280.898

Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaração_Departamento_Analise_Citricas.pdf	24/06/2017 19:02:39	Cândice Lais Knöner Copetti	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaração_uao_do_BIOMEC.pdf	24/06/2017 19:02:28	Cândice Lais Knöner Copetti	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaração_da_Instituicao.pdf	24/06/2017 19:02:12	Cândice Lais Knöner Copetti	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	24/06/2017 19:01:56	Cândice Lais Knöner Copetti	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_1.pdf	11/07/2017 20:30:56	Cândice Lais Knöner Copetti	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANÓPOLIS, 18 de Setembro de 2017

Assinado por:
Yimar Correa Neto
(Coordenador)

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Praça Reitoria 8, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade CEP: 88.045-400
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cep.propesq@comita.ufsc.br

ANEXO B – QUESTIONÁRIO IPAQ – VERSÃO CURTA

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA –
VERSÃO CURTA -

Nome: _____
 Data: ____/____/____ Idade : ____ Sexo: F () M ()

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação à pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na ÚLTIMA semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são MUITO importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação !

Para responder as questões lembre que:

- > atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal
- > atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez.

1a Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias ____ por SEMANA () Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

horas: ____ Minutos: ____

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar

moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)

dias ____ por SEMANA () Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: ____ Minutos: ____

3a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração.

dias ____ por SEMANA () Nenhum

3b Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: ____ Minutos: ____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclui o tempo gasto sentado durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?
____ horas ____ minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?
____ horas ____ minutos

CENTRO COORDENADOR DO IIAO NO BRASIL – CELAFISCS -
INFORMAÇÕES: ANÁLISE, CLASSIFICAÇÃO E COMPARAÇÃO DE RESULTADOS NO BRASIL
Tel/Fax: – 011-42298989 ou 42298843. E-mail: celafiscs@celafiscs.com.br
Home Page: www.celafiscs.com.br IIAO Internacional: www.ipaq.br/pt

ANEXO C - DIRETRIZES PARA PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS DO IPAQ – VERSÃO CURTA



Revised April 2004

Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) - Short Form,

Version 2.0. April 2004

Introduction

This document provides a revision to the outline for scoring the short forms of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). This is available on the website www.ipaq.ki.se.

There are many different ways to analyse physical activity data, but to-date there is no consensus on a 'correct' method for defining or describing levels of activity based on self-report surveys. The use of different scoring protocols makes it very difficult to compare within and between countries, even when the same instrument has been used.

IPAQ is an instrument designed primarily for population surveillance of adults. It has been developed and tested for use in adults (age range of 15-69 years) and until further development and testing is undertaken the use of IPAQ with older and younger age groups is not recommended. IPAQ is being used also as an evaluation tool in some intervention studies, but the range of domains and types of activities included in IPAQ should be carefully noted before using it in this context.

This document describes the *April 2004 revision* to the IPAQ short scoring protocol¹. These revisions are have been suggested by the IPAQ scientific group, to examine variation among countries in more detail². Given the broad range of domains of physical activity asked in IPAQ, new cutpoints need to be trialed and developed to express physical activity in the population. These cutpoints are preliminary, in the sense that they are not yet supported by epidemiological studies, which have typically used Leisure time physical activity (LTPA) to examine benefits or risks of being active. Hence, "30 minutes of moderate intensity PA on most days of the week" was evidence-based, using the estimates of risk (reduction) from these LTPA measures in numerous epidemiological studies.

A new set of suggested cutpoints is based on work in the area of total physical activity, specifically total walking, where recommendations of at least 10,000 steps, and possibly 12,500 steps per day are considered 'high active' (Tudor Locke reference). This equates to at least 2 hours of all forms of walking per day, which includes all settings and domains of activity, and could be a population goal for total HEPA (health-enhancing physical activity). With this background, new cutpoints are proposed for expressing physical activity levels in populations using generic physical activity measures such as IPAQ³.

¹ The first version of an IPAQ scoring protocol was in August 2003; this is a revised version, April 2004. This revised version does not change the continuous forms of reporting data, but does suggest a new category for describing the most active groups in populations. The changes from the August 2003 scoring protocol are indicated in this document.

² Previous scoring algorithms returned high prevalence rates with limited variation among countries; hence a higher cutpoint is sought, as the IPAQ instrument measures total PA, including LTPA as well as incidental, occupational and transport related PA all in one question. This results in much higher prevalence estimates than measures of LTPA alone.

³ This results in changes to the categories used for levels of activity, and to the transition rules (as greater than two hours per day may be required as usable data for walking and other physical activity behaviors).

Characteristics of the IPAQ short-form instrument:

- 1) IPAQ assesses physical activity undertaken across a comprehensive set of domains including leisure time, domestic and gardening (yard) activities, work-related and transport-related activity;
- 2) The IPAQ short form asks about three specific types of activity undertaken in the three domains introduced above and sitting. The specific types of activity that are assessed are walking, moderate-intensity activities and vigorous intensity activities; frequency (measured in days per week) and duration (time per day) are collected separately for each specific type of activity.
- 3) The items were structured to provide separate scores on walking, moderate-intensity, and vigorous-intensity activity as well as a combined total score to describe overall level of activity. Computation of the total score requires summation of the duration (in minutes) and frequency (days) of walking, moderate-intensity and vigorous-intensity activity;
- 4) Another measure of volume of activity can be computed by weighting each type of activity by its energy requirements defined in METs (METs are multiples of the resting metabolic rate) to yield a score in MET-minutes. A MET-minute is computed by multiplying the MET score by the minutes performed. MET-minute scores are equivalent to kilocalories for a 60 kilogram person. Kilocalories may be computed from MET-minutes using the following equation: MET-min x (weight in kilograms/60 kilograms). The selected MET values were derived from work undertaken during the IPAQ Reliability Study undertaken in 2000-2001. Using the Ainsworth et al. Compendium (*Med Sci Sports Med* 2000) an average MET score was derived for each type of activity. For example, all types of walking were included and an average MET value for walking was created. The same procedure was undertaken for moderate-intensity activities and vigorous-intensity activities. These following values continue to be used for the analysis of IPAQ data: Walking = 3.3 METs, Moderate PA = 4.0 METs and Vigorous PA = 8.0 METs ⁴.

Analysis of IPAQ

Both categorical and continuous indicators of physical activity are possible from the IPAQ short form. However, given the non-normal distribution of energy expenditure in many populations, the continuous indicator is presented as median minutes or median MET-minutes rather than mean minutes or mean MET-minutes.

Categorical score

Regular participation is a key concept included in current public health guidelines for physical activity.⁵ Therefore, both the total volume and the number of day/sessions are included in the IPAQ analysis algorithms. There are three levels of physical activity suggested for classifying

⁴ Note that there is still some debate about whether 8 Mets for vigorous is sustainable, in occupational settings for several hours; we have no data on this, but it is likely to be less than that, maybe 7 METs or even less; however, for the moment, we suggest keeping with the compendium value of 8 METs.

⁵ Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Maccera CA, Bouchard C et al. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *Journal of American Medical Association* 1995; 273(5):402-7. and U.S. Department of Health and Human Services. *Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General*. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, The President's Council on Physical Fitness and Sports: Atlanta, GA/USA, 1996.



populations; these are the new proposed levels, which take account of the concept of total physical activity of all domains. The proposed levels are:

- [i] 'inactive
- [ii] 'minimally active'⁶
- [iii] 'HEPA active' (health enhancing physical activity; a high active category).

The criteria for these three levels are shown below.

1. Inactive (CATEGORY 1)

This is the lowest level of physical activity. Those individuals who not meet criteria for Categories 2 or 3 are considered 'insufficiently active' [CATEGORY 1].

2. Minimally Active (CATEGORY 2)

The minimum pattern of activity to be classified as 'sufficiently active' is any one of the following 3 criteria:

- a) 3 or more days of vigorous activity of at least 20 minutes per day OR
- b) 5 or more days of moderate-intensity activity or walking of at least 30 minutes per day OR
- c) 5 or more days of any combination of walking, moderate-intensity or vigorous intensity activities achieving a minimum of at least 600 MET-min/week.

Individuals meeting at least one of the above criteria would be defined as achieving the minimum recommended to be considered 'minimally active' [CATEGORY 2]. This category is more than the minimum level of activity recommended for adults in current public health recommendations, but is not enough for "total PA" when all domains are considered. IPAQ measures total physical activity whereas the recommendations are based on activity (usually leisure-time or recreational) over and above usual daily activities.

3. HEPA active (CATEGORY 3)

A separate category labeled 'HEPA' level, which is a more active category [CATEGORY 3] can be computed for people who exceed the minimum public health physical activity recommendations, and are accumulating enough activity for a healthy lifestyle. This is a useful indicator because it is known that higher levels of participation can provide greater health benefits, although there is no consensus on the exact amount of activity for maximal benefit. Also, in considering lifestyle physical activity, this is a total volume of being active which reflects a healthy lifestyle. It is at least 1.5 – 2 hours of 'being active' throughout the day, which is more than the LTPA-based recommendations of 30 minutes⁷.

In the absence of any established criteria, the IPAQ scientific group proposes this new cutpoint, which equates to approximately at least 1.5 -2 hours of total activity per day, of at least moderate-intensity activity. It is desirable to have a 'HEPA' activity category, because in some populations, a large proportion of the population may be classified as "minimally active" because the IPAQ instrument assess all domains of activity. Category 3 sets a higher threshold of activity and provides a useful mechanism to distinguish variation in sub-population groups.

⁶ 'Minimally active' implies some physical activity but is not an optimal level of total HEPA.

⁷ As Tudor-Locks and others have indicated, there is a basal level of around 1 hour of activity just in activity of daily living, and an additional 0.5 – 1 hour of LTPA makes a healthy lifestyle amount of total PA – hence, these new cutpoints are still consistent with the general LTPA based public health recommendations of at least half an hour per day of additional activity or exercise.

The two criteria for classification as 'HEPA active' are:

- a) vigorous-intensity activity on at least 5 days achieving a minimum of at least 1500 MET-minutes/week OR
- b) 7 or more days of any combination of walking, moderate-intensity or vigorous intensity activities achieving a minimum of at least 3000 MET-minutes/week²

Continuous score

Data collected with IPAQ can be reported as a continuous measure and reported as median MET-minutes. Median values can be computed for walking (W), moderate-intensity activities (M), and vigorous-intensity activities (V) using the following formulas:

MET values and Formula for computation of Met-minutes

Walking MET-minutes/week = 3.3 * walking minutes * walking 'days'

Moderate MET-minutes/week = 4.0 * moderate-intensity activity minutes * moderate days

Vigorous MET-minutes/week = 8.0 * vigorous-intensity activity minutes * vigorous-intensity days

A combined total physical activity MET-min/week can be computed as the sum of Walking + Moderate + Vigorous MET-min/week scores.

The MET values used in the above formula were derived from the IPAQ validity and reliability study undertaken in 2000-2001². A brief summary of the method is provided above (see page 1).

As there are no established thresholds for presenting MET-minutes, the IPAQ Research Committee proposes that these data are reported as comparisons of median values and interquartile ranges for different populations.

IPAQ Sitting Question

The IPAQ sitting question is an additional indicator variable and is not included as part of any summary score of physical activity. Data on sitting should be reported as median values and interquartile range. To-date there are few data on sedentary (sitting) behaviors and no well-accepted thresholds for data presented as categorical levels.

Data Processing Rules

In addition to a standardized approach to computing categorical and continuous measures of physical activity, it is necessary to undertake standard methods for the cleaning and treatment of IPAQ datasets. The use of different approaches and rules would introduce variability and reduce the comparability of data.

There are no established rules for data cleaning and processing on physical activity. Thus, to allow more accurate comparisons across studies IPAQ has established and recommends the following guidelines:

1. Data cleaning

- time should be converted from hours and minutes into minutes

² Note: this replaces the previous IPAQ short form cutpoint of 1500 mets./min/week

² Craig CL, Marshall A, Sjöström M et al. International Physical Activity Questionnaire: 12 country reliability and validity Med Sci Sports Exerc 2003;August.



- ensure that responses in 'minutes' were not entered in the 'hours' column by mistake during self-completion or during data entry process, values of '15', '30', '45', '60' and '90' in the 'hours' column should be converted to '15', '30', '45', '60' and '90' minutes, respectively, in the minutes column.
- time should be converted to daily time [usually is reported as daily time, but a few cases will be reported as optional weekly time – eg. VWHR5, VWMIN5 – convert to daily time]
- convert time to mets-mins [see above; days x daily time]
- must leave the number of days for the day variables; for the 'time' variables, either daily or weekly time is needed – if 'don't know' or 'refused' or data are missing in walking, moderate or vigorous days or minutes, then that case is removed from analysis

2. Maximum Values for excluding outliers

This rule is to exclude data which are unreasonably high; these data are to be considered outliers and thus are excluded from analysis. All Walking, Moderate and Vigorous time variables which total at least or greater than '16 hours' should be excluded from the analysis.

The 'days' variables can take the range 0-7 days, or 8,9 (don't know or refused); values greater than 9 should not be allowed and those data excluded from analysis.

3. Truncation of data rules

This rule is concerned with data truncation and attempts to normalize the distribution of levels of activity which are usually skewed in national or large population data sets. It is recommended that all Walking, Moderate and Vigorous time variables exceeding '4 hours' or '240 minutes' are truncated (that is re-coded) to be equal to '240 minutes' in a new variable¹⁰. This rule permits a maximum of 28 hours of activity in a week to be reported for each category of physical activity.

This rule requires further testing, but is an initial manner proposed for classifying these population data.

When analysing IPAQ data and presenting the results in categorical variables, this rule has the important effect of preventing misclassification in the 'high active' category. For example, an individual who reports walking for 2.5 hours every day and nothing else would be classified as 'HEPA active' (reaching the threshold of 7 days, and ≥ 3000 MET mins. Similarly, someone who reported walking for 90 minutes on 5 days, and 4 hours (240 mins) of moderate activity on another day and 70 minutes of vigorous activity on another day, would also be coded as 'HEPA active' because this pattern meets the '7 day' and "3000 MET-min" criteria for "HEPA active".

4. Minimum Values for Duration of Activity

Only values of 10 or more minutes of activity will be included in the calculation of summary scores. The rationale being that the scientific evidence indicates that episodes or bouts of at least 10 minutes are required to achieve health benefits. Responses of less than 10 minutes [and their associated days] should be re-coded to 'zero'.

Summary of Data Processing Rules 1- 4 above

Data management rules 2, 3, and 4 deal with first excluding outlier data, then secondly, recoding high values to '4 hours', and finally describing minimum amounts of activity to be included in

¹⁰ Note that this is a different truncation rule to the earlier scoring protocol; we have previously used 2 hours as a truncation point for LTPA measures. This higher truncation point is proposed in order to allow people who walk for 2.5 hours per day and do nothing else to be categorized as 'HEPA active'; if data were truncated, these individuals would be recoded to 2 hours per day, and over 7 days, total 2772 MET mins, due to the truncation rule. The new truncation rule allows 2.5 hours to be counted in full. The initial purpose of truncation was to normalize the distributions, and was based on expert judgments. It is now suggested that 4 hours / day be proposed as a truncation threshold for more inclusive 'lifestyle PA measures' such as IPAQ.

analyses. These rules will ensure that highly active people remain highly active, while decreasing the chances that less active individuals are coded as highly active.

5. Calculating Total Days for 'minimally Active' [category 2] and 'HEPA Active' [category 3]

Presenting IPAQ data using categorical variables requires the total number of 'days' on which all physical activity was undertaken to be assessed. This is difficult because frequency in 'days' is asked separately for walking, moderate-intensity and vigorous-intensity activity, thus allowing the total number of 'days' to range from a minimum of 0 to a maximum of 21 'days' per week. The IPAQ instrument does not record if different types of activity are undertaken on the same day.

In calculating 'minimal activity', the primary requirement is to identify those individuals who undertake a combination of walking and/or moderate-intensity activity on at least '5 days/week'. Individuals who meet this criterion should be coded in a new variable called "at least five days".

Below are two examples showing this coding in practice:

- i) an individual who reports '2 days of moderate' and '3 days of walking' should be coded as a value indicating "at least five days";
- ii) an individual reporting '2 days of vigorous', '2 days walking' and '2 days moderate' should be coded as a value to indicate "at least five days" [even though the actual total is 6].

The original frequency of 'days' for each type of activity should remain in the data file for use in the other calculations.

The same approach as described above is used to calculate total days for computing the 'HEPA active' category. The primary requirement according to the stated criteria is to identify those individuals who undertake a combination of walking, moderate-intensity and or vigorous activity on at least 7 days/week. Individuals who meet this criterion should be coded in a value in a new variable to reflect "at least 7 days".

Below are two examples showing this coding in practice:

- i) an individual who reports '4 days of moderate' and '3 days of walking' should be coded as the new variable "at least 7 days".
- ii) an individual reporting '3 days of vigorous', '3 days walking' and '3 days moderate' should be coded as "at least 7 days" [even though the total adds to 9].

Summary: The algorithm(s) in Appendix 1 and Appendix 2 to this document show how these rules work in an analysis plan, to develop the categories 1 [inactive], 2 [minimally], and 3 [HEPA] levels of activity. A short form ["at a glance"] and a diagram showing these analytic steps for 'sufficient physical activity' and 'high active' categories are shown as appendix 1 at the end of this document.

IPAQ Research Committee

April 2004



APPENDIX 1

At A Glance IPAQ Scoring Protocol (Short Versions)

Categorical Score- three levels of physical activity are proposed

1. **Inactive**

- * No activity is reported **OR**
- * Some activity is reported but not enough to meet Categories 2 or 3.

2. **Minimally active**

Any one of the following 3 criteria

- * 3 or more days of vigorous activity of at least 20 minutes per day **OR**
- * 5 or more days of moderate-intensity activity or walking of at least 30 minutes per day **OR**
- * 5 or more days of any combination of walking, moderate-intensity or vigorous intensity activities achieving a minimum of at least 600 MET-min/week.

3. **HEPA active**

Any one of the following 2 criteria

- * Vigorous-intensity activity on at least 3 days and accumulating at least 1500 MET-minutes/week **OR**
- * 7 or more days of any combination of walking, moderate-intensity or vigorous intensity activities achieving a minimum of at least 3000 MET-minutes/week

Continuous Score

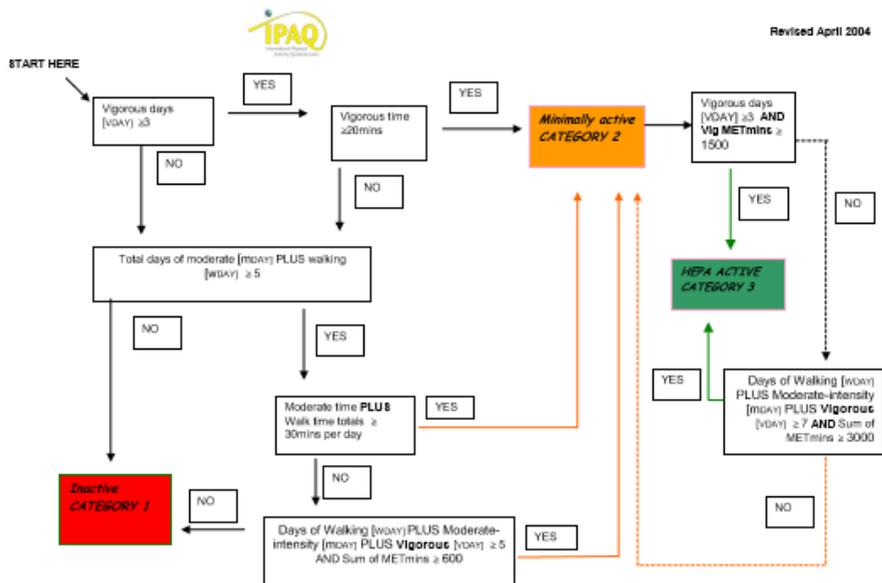
Expressed as MET-min per week: MET level x minutes of activity x events per week

Sample Calculations

MET levels	MET-min/week for 30 min episodes, 5 times/week
Walking – 3.3 METs	$3.3 \times 30 \times 5 = 495$ MET-min/week
Moderate Intensity – 4.0 METs	$4.0 \times 30 \times 5 = 600$ MET-min/week
Vigorous Intensity – 8.0 METs	$8.0 \times 30 \times 5 = 1,200$ MET-min/week
	TOTAL = 2,295 MET-min/week

Total MET-min/week = (Walk METs*min*days) + (Mod METs*min*days) + Vig METs*min*days)

Please review the document "Guidelines for the data processing and analysis of the International Physical Activity Questionnaire (Short Form)" for more detailed description of IPAQ analysis and recommendations for data cleaning and processing (www.ipaq.ki.se).



APPENDIX 2: Flow chart algorithm for the analysis of IPAQ short form