

UNIVERSIDADE SÃO JUDAS TADEU

DOUTORADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

Jeferson Oliveira Santana

Efeitos da suplementação aguda de nitrato no desempenho, fadiga central e fadiga periférica em corredores de rua.

São Paulo

2021

Jeferson Oliveira Santana

Efeitos da suplementação aguda de nitrato no desempenho, fadiga central e periférica em corredores de rua.

Tese apresentada ao programa de pós-graduação stricto sensu da Universidade São Judas Tadeu, como requisito para obtenção do título em Doutor em Educação Física.

Área de concentração: Fenômeno esportivo

Orientação: Prof. Dr. Érico Chagas Caperuto.

São Paulo

2021

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da
Universidade São Judas Tadeu**

Bibliotecária: Adriana Aparecida Magalhães - CRB 8/10264

Santana, Jeferson Oliveira.

S231e Efeitos da suplementação aguda de nitrato no desempenho, fadiga central e fadiga periférica em corredores de rua / Jeferson Oliveira Santana. - São Paulo, 2021.
f. 66: il.; 30 cm.

Orientadora: Érico Chagas Caperuto.

Tese (doutorado) – Universidade São Judas Tadeu, São Paulo, 2021.

1. Corrida de rua. 2. Fadiga central. 3. Fadiga periférica. 4. Nitrato. I. Caperuto, Érico Chagas. II. Universidade São Judas Tadeu, Programa de

BANCA EXAMINADORA

AGRADECIMENTOS:

- Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, por iluminar meu caminho e tornar este sonho possível.
- Aos meus pais, que foram minha base nos momentos mais difíceis nessa caminhada, me dando força, confiança, amor, ensinando a persistir nos meus objetivos e ajudando a alcançá-los
- Ao meu orientador, Prof. Dr. Érico Chagas Caperuto, pelas orientações acadêmicas nestes últimos 9 anos, sendo fundamental no meu crescimento intelectual. Além disso, me deu todo apoio e paciência, sendo em muitas vezes muito mais que um orientador. Obrigado.
- Aos meus colegas Prof. Dr. André Rinaldi Fukushima e Iago Portolani, amigos que a ciência me trouxe, pela parceria nestes últimos anos, sendo essenciais em diversos momentos durante a finalização desta tese, assim como em vários momentos particulares de dificuldade na minha vida.
- Aos colegas do Laboratório do Movimento Humano da USJT, em especial ao Prof. Dr. Elias de França e o Prof. Dr. Marcio Flávio Ruaro, nos ajudando com conselhos e orientações na parte acadêmica e a todos que de alguma forma, contribuíram para a realização deste projeto.
- Aos participantes do estudo, pois sem eles nada disso teria acontecido.

RESUMO

Introdução: A corrida de rua é um esporte em constante crescimento, sendo as distâncias de 10km uma das mais praticadas por atletas recreacionais. Apesar disso, diversos atletas sentem dificuldades ao completar uma prova nesta distância. Esta dificuldade se deve a influência da fadiga central e periférica, que elevadas, prejudicam a execução de diversos exercícios físicos, como os de longa duração. Uma estratégia que pode atenuar esta fadiga é a utilização de recursos ergogênicos e um potencial recurso para esta atenuação é a suplementação de nitrato, um potente vasodilatador com diversos benefícios fisiológicos, que podem diminuir a fadiga central e periférica. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da suplementação de nitrato no desempenho, fadiga central e periférica em corredores de 10km. **Materiais e métodos:** Estudo randomizado, cruzado e duplo-cego, onde 9 participantes com idade média de $33,63 \pm 5,13$ anos, realizaram um teste de 10km sendo divididos em dois grupos, nitrato (NIT) e controle (CON). Foram realizadas uma coleta antes dos testes, denominado momento PRE e logo após os testes, denominado momento POS. As variáveis coletadas foram: desempenho, creatina quinase, lactato desidrogenase, concentração de lactato, nitrito plasmático e meta-hemoglobina, teste neuropsicológico de Stroop Color e teste de Trilhas. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão. Foi realizado um teste de normalidade da amostra (Shapiro-wilk). As variáveis foram analisadas através do teste T de Student não pareado (teste de desempenho), teste ANOVA de medidas repetidas, com pós-teste de Tukey, quando necessário. O nível de significância adotada foi de $p < 0,05$. **Resultados:** Na análise de performance, não houve diferenças significativas ($p = 0,288$). A concentração de nitrito apresentou um aumento significativo no grupo NIT, quando comparado ao grupo CON ($p = 0,020$) e ao momento Pré ($p = 0,010$). Já a meta-hemoglobina não apresentou diferenças significativas. Com relação aos sinais periféricos, o grupo NIT apresentou concentrações sanguíneas de CK menores quando comparado ao controle ($p = 0,036$). Além disso, o grupo CON apresentou concentrações de CK e LDH maiores, quando comparado ao momento Pré (CK: $p = 0,016$; LDH: $p = 0,003$). Na concentração de LAC, ambos os grupos apresentaram um aumento significativo quando comparados ao momento Pré (CON: $p = 0,001$; NIT: $p = 0,000$). Nos sinais centrais, ambos os grupos apresentaram diminuição do tempo de execução do teste de Trilhas, quando comparado ao momento Pré (CON: $p = 0,011$; NIT: $p = 0,001$). No teste de Stroop Color, ambos os grupos apresentaram diminuição significativa no tempo de execução no terceiro teste, quando comparado ao momento Pré (CON: 0,022; NIT: 0,016). Nos dois primeiros testes, somente o grupo NIT apresentou diminuição significativa, quando comparado ao momento Pré (Teste 1: $p = 0,041$; Teste 2: $p = 0,008$). **Conclusão:** Com estes resultados, concluímos que a suplementação aguda de Nitrato é eficaz na melhora dos sinais centrais e periféricos de corredores de 10km.

Palavras-chave: corrida de rua, fadiga central, fadiga periférica, nitrato

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Metabolismo da serotonina durante exercício de longa duração.....	17
Figura 2. Conversão Nitrato - Nitrito - Óxido Nitrico.....	21
Figura 3. Suco de beterraba concentrado enriquecido com nitrato (Beet it Sport 3000®).....	27
Figura 4. Aparelho LabMax 100.....	29
Figura 5. Aparelho de análise da concentração sanguínea de lactato (YSI 2500).....	30
Figura 6. Teste de Trilhas B.....	30
Figura 7. Teste de Stroop Color.....	31
Figura 8. Aparelho de Bioimpedância (Inbody 120).....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Curva de calibração com a concentração de NO ₂ µg/mL em cada balão volumétrico..	34
Tabela 2 Relação do número do balão volumétrico com a concentração e valor de absorbância.	35
Tabela 3 Caracterização da amostra.....	36
Tabela 4 Composição corporal dos participantes dos testes de 10km.....	37
Tabela 5 Concentração sanguínea de nitrito antes e após os testes de 10km.....	37
Tabela 6. Concentração sanguínea de meta-hemoglobina antes e após os testes de 10km.....	38
Tabela 7 Tempo total na corrida de 10km nos diferentes grupos.....	39
Tabela 8 Comparação da concentração de lactato dos participantes pós teste.....	39
Tabela 9 Comparação da concentração sanguínea de CK nos participantes.....	40
Tabela 10 Comparação da concentração sanguínea de LDH antes e após os testes de 10km.....	41
Tabela 11 Comparação do tempo total de execução do teste de TRILHAS, antes e após a corrida de 10km.....	41
Tabela 12 Comparação do teste de Stroop Color em três momentos diferentes, realizados antes e após a corrida.....	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Justificativa.....	13
2 OBJETIVO	14
2.1. Objetivo Geral.....	14
2.2. Objetivo Específico.....	14
2.2.1 Fadiga periférica.....	14
2.2.2 Fadiga Central.....	14
2.2.3 Desempenho.....	14
2.2.4 Dosagens séricas.....	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Corrida de rua.....	15
3.2 Sinalizações centrais e periféricas da fadiga.....	16
3.2.1 Sinalização central de fadiga.....	16
3.2.2 Sinalização periférica da fadiga.....	19
3.3 Nitrato.....	20
3.3.1 Suplementação de nitrato no exercício físico.....	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 Caracterização da amostra.....	25
4.2. Desenho experimental.....	26
4.3 Coleta de variáveis.....	28
4.4 Análise Estatística.....	35
5 RESULTADOS	36
5.1 Caracterização da amostra e composição corporal.....	36
5.2 Concentração sanguínea de Nitrito e Meta-Hemoglobina.....	37
5.3 Desempenho.....	38
5.4 Fadiga periférica.....	39
5.5 Fadiga central.....	41
6 DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÃO	50

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
ANEXO 1.....	62
ANEXO 2.....	65

Introdução

A corrida de rua é um esporte em constante crescimento, sendo as distâncias de 10km, 21km e 42km as mais praticadas por atletas recreacionais. Segundo CUSHMAN & MARKET & RHO (2014) cerca 1,3 milhões de pessoas concluíram uma prova de 10km em 2010 nos Estados Unidos da América, um número 4 vezes maior que os que participaram de uma maratona (42,195km) (RUNNING USA, 2017).

Apesar disso, a corrida de 10km apresenta suas dificuldades. Quando realizada em uma grande intensidade, é comum corredores relatarem dificuldades no término da prova devido a um quadro de fadiga (PAAVOLAINEN, et al. 1999).

Apesar de ser um termo amplo, neste trabalho adotamos a palavra fadiga para explicar falhas nas sinalizações que podem ocorrer nas unidades motoras, gerando limitações na contração muscular (fadiga periférica) e nas ações e cognições que necessitam de um aumento do esforço ou performance, sendo interrompido sem que nenhuma disfunção na musculatura esquelética fosse evidente (fadiga central) (FITTS, 1996; MORGAN, et al., 2006).

Com relação a uma corrida em que o objetivo é a melhora da performance, o corredor pode apresentar fadiga periférica, evidenciado pelas concentrações dos marcadores de danos musculares (creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH)) (KOHN, GUSTAVSSON e MYBURGH, 2007; DANTAS et al., 2019).

Com relação a fadiga central, as informações ainda são escassas quando relacionado as distâncias de 10km. Entretanto, diversos estudos vêm mostrando que o exercício aeróbio é capaz de aumentar o fluxo sanguíneo cerebral, aumentando assim a estimulação da função cognitiva e a liberação de neurotransmissores, como a serotonina e dopamina (ANTUNES, et al., 2006).

Embora a liberação desses neurotransmissores, que também podem ocorrer somente pelo exercício, sem a influência do aumento do fluxo sanguíneo cerebral, apresentem diversos benefícios, o excesso da liberação de serotonina, associado com a diminuição da dopamina, pode acarretar no aparecimento de uma falha na sinalização central, influenciando negativamente na capacidade muscular e na sensação de exaustão

durante exercícios com duração prolongada, como a corrida de rua (HEIJNEN et al., 2016).

Para melhorar a performance e diminuir a questão de falhas na sinalização de estímulos, tanto de origem central como periférica, corredores recreacionais procuram estratégias. Uma estratégia utilizada é a utilização de recursos ergogênicos, como por exemplo a utilização de suplementos. Um suplemento com potencial na melhora da performance e diminuição destas falhas é o nitrato.

O nitrato (NO_3) como precursor do óxido nítrico (NO) é uma descoberta recente dos pesquisadores. Quando consumido, o NO_3 é convertido em nitrito (NO_2) na boca, através de enzimas que são produzidas por bactérias comensais facultativas encontradas na língua. Este NO_2 é convertido a (NO) no estômago devido a enzimas encontradas no caminho ao estomago e a acidez estomacal (CLEMENTS, LEE & BLOOMER, 2014; GOVONI et al., 2008; LUNDBERG & GOVONI, 2004).

A produção de NO a partir do NO_3 apresenta diversos benefícios, principalmente com relação a diminuição da pressão arterial em repouso e em exercício e diminuição no custo de oxigênio em exercícios com intensidade submáximos, pois melhora a eficiência mitocondrial (LARSEN, et al., 2011).

Além disso, o NO_3 contribui para uma melhora em esportes de alta intensidade devido aos efeitos que o mesmo tem na diminuição no custo de adenosina trifosfato (ATP) e preserva a concentração de creatina fosfato (CP), devido a melhora da eficiência mitocondrial, evitando o aumento das concentrações de adenosina difosfato (ADP) e fosfato intracelular, que são relacionadas ao aumento da fadiga (BAILEY, et al., 2009).

O NO_3 também propicia benefícios através do aumento das respostas fisiológicas das fibras de contração rápida (fibra tipo II). A baixa tensão de oxigênio ao redor das fibras tipo II pode reduzir o NO_3 à NO_2 , melhorando a perfusão local, a resistência a fadiga e a contração da fibra muscular (JONES et al., 2016).

Outra função que a suplementação de nitrato apresenta efeitos positivos é com relação as funções cognitivas. Presley et al. (2011) mostrou que uma alimentação rica em nitrato é capaz de estimular a perfusão cerebral no córtex pré-frontal de idosos, região ligada diretamente as funções cognitivas.

Apesar do nitrato apresentar diversos benefícios para quem faz o uso da sua suplementação, Ashworth e Bescos (2017), relatam que a mesma pode aumentar as concentrações de meta-hemoglobina. Os pesquisadores ainda relatam que concentrações mais elevadas de nitrato no sangue estão associadas ao desenvolvimento da meta-hemoglobinemia (altas concentrações plasmáticas de meta-hemoglobina), o que interfere no transporte de oxigênio pelo sangue, podendo interferir na sinalização da fadiga periférica e fadiga central.

Apesar das provas de 10km ser uma distância considerada curta, a performance do corredor pode ser prejudicada nesta modalidade devido a falha nas sinalizações centrais e periféricas durante a prova. Entretanto, não há na literatura uma especificação sobre o maior fator prejudicial ser a falha na sinalização central ou periférica.

Além disso, o nitrato, apresenta benefícios ergogênicos com relação a performance de corredores de rua, entretanto é pouco explorado com relação a seus efeitos nas sinalizações centrais e periféricas.

1.1 Justificativa

A maior parte dos estudos presentes na literatura fala sobre as falhas da sinalização que geram fadiga central e periférica de maratonistas, apresentando poucas informações em relação a corredores de 10km. Também não há estudos que considerem as diferenças entre cada uma dessas falhas e sua influência sobre o desempenho de corredores de rua em provas de 10km

Além disso, não são descritos na literatura, métodos de suplementação que possam influenciar a performance, a sinalização central e sinalização periférica de fadiga em corredores de 10km e meia-maratona.

Portanto, com as informações relatadas acima, se faz necessário um estudo que verifique se há falhas da sinalização central e periférica em corredores de rua e a influência da suplementação de nitrato, na performance de corredores de rua, na sinalização central e sinalização periférica de fadiga em corredores de rua de 10km.

2. Objetivo

2.1. Objetivo geral

Analisar os efeitos da suplementação de nitrato na performance, fadiga central e periférica nestas distâncias.

2.2. Objetivo específico

2.2.1. Fadiga periférica

Avaliar o dano muscular após o teste através das concentrações sanguíneas de:

- CK
- LDH
- Lactato (LAC)

2.2.2. Fadiga central

Avaliar a capacidade cognitiva dos corredores através de:

- Testes cognitivo de Stroop Color
- Teste cognitivo de Trilhas

2.2.3. Desempenho

Comparar o tempo de provas dos corredores para verificar a influência da suplementação de nitrato na performance.

2.2.4. Dosagens séricas

Verificar as concentrações de nitrito plasmático e meta-hemoglobina dos corredores, antes e após os testes.

3. Revisão de literatura

3.1 Corrida de rua

As corridas de rua surgiram na Inglaterra no século XVIII. No final do século XIX, após a primeira maratona olímpica, as corridas de rua ganharam espaço e difundiram-se ainda mais, principalmente nos Estados Unidos. A partir dos anos 70, a prática da corrida de rua aumentou de forma expressiva, surgindo as primeiras provas com a participação de praticantes para fins recreativos com corredores de elite (SALGADO & CHACON-MIKAHIL, 2006).

No Brasil, a prática está cada vez mais popular, prevalecendo principalmente entre os que praticam atividade física para fins recreativos (SALGADO et al., 2014). Esse aumento é motivado pelo conhecimento que a população geral adquiriu sobre os benefícios com relação a saúde na prática da corrida de rua (YAMATO et al., 2015).

Além da saúde, outros benefícios relatados são a melhora da estética, um aumento na integração social, a fuga do estresse da vida moderna, até a procura por atividades prazerosas e competitivas (SALGADO & CHACON-MIKAHIL, 2006). Segundo Pazin (2008), os benefícios físicos e os mentais já são de consenso na literatura científica.

Entre as diversas distâncias que a modalidade apresenta, o percurso de 10km é um dos mais praticados. Dados norte-americanos mostram que a distância de 10km é uma das corridas mais realizadas dos Estados Unidos, sendo ela a segunda com o maior número de eventos no país (4.200) e a terceira com o maior número de concluintes (~ 1.2 milhões), além de ter duas provas entre as três com o maior número de concluintes (Running Usa, 2017). No Brasil, nenhum órgão contabiliza com precisão o número de concluintes e eventos de nenhuma distância.

Normalmente, durante uma prova de corrida de rua de 10km, é utilizada uma estratégia para controlar sua velocidade durante a corrida de rua, afim de conseguir chegar

ao final da prova em um menor tempo (BERTUZZI et al., 2014; LIMA-SILVA et al., 2010).

Essa estratégia é consistida em dividir a prova em três partes, sendo a primeira parte uma aceleração rápida no começo da prova (em média 400m), na segunda parte se mantém uma velocidade constante (em média de 9km) e a terceira parte uma nova aceleração (em média de 400m) para o término da prova (BERTUZZI et al., 2014; TUCKER, LAMBERT e NOAKES, 2006).

Para realizar com esta estratégia na corrida, é necessário que nosso corpo produza energia necessária para realizar o exercício. As duas vias mais utilizadas na corrida de 10km para produzir esta energia são o sistema aeróbio, no desenvolvimento na corrida e a glicólise anaeróbia, no *sprint* inicial e no *sprint* final (DAMASCENO et al., 2015).

Apesar deste detalhamento sobre a estratégia dos corredores em prova de 10km, a literatura é muito escassa com relação a outras análises deste tipo de corrida, como sua evolução e seus marcadores neurológicos, testes psicológicos e fisiológicos, principalmente quando comparado a outros tipos de corrida (CUSHMAN, MARKET & RHO, 2014).

3.2 Sinalizações centrais e periféricas de fadiga

3.2.1 Sinalização central de fadiga

A falha de uma sinalização central pode ser definida como o estado em que ações e cognições que necessitam de um aumento do esforço ou performance, é interrompido sem que nenhuma disfunção na musculatura esquelética fosse evidente, gerando assim uma fadiga (MORGAN, et al., 2006).

A fadiga ocorre no sistema nervoso central, pois nele há uma redução da quantidade de unidades motoras funcionantes ou da frequência de disparos das mesmas (GIBSON and EDWARDS, 1985).

O mecanismo para o aparecimento desta falha central está relacionado aos processos de formulação de padrões motores, transmitindo estes ao longo do córtex

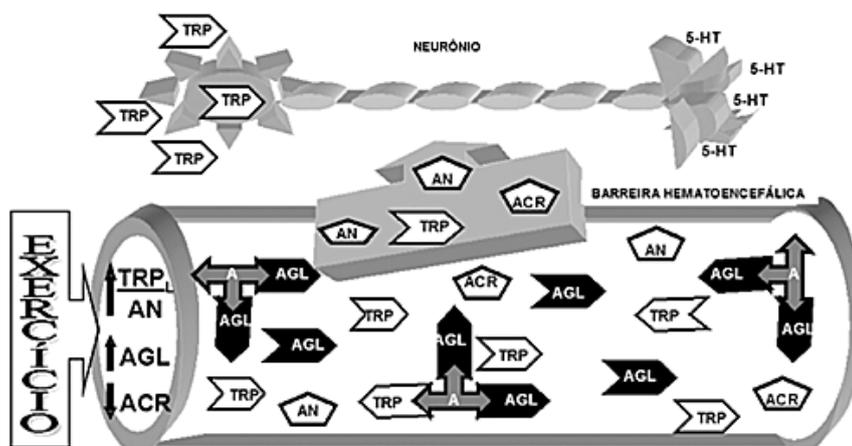
cerebral, cerebelo e junções sinápticas a específicos nervos eferentes dentro da medula espinhal (GIBSON and EDWARDS, 1985).

Normalmente, a falha na sinalização central aparece na prática de atividade física, mais comumente em praticantes de exercícios de longa duração com baixa/média intensidade, mas também podendo surgir na prática de exercícios de curta duração e alta intensidade (CARROLL, TAYLOR e GANDEVIA, 2017).

Diversas pesquisas vêm mostrando que em atividades de longa duração com baixa/moderada intensidade, como a corrida e o ciclismo, os fatores que podem gerar a uma falha central, são as interações de alguns neurotransmissores cerebrais durante o exercício, como a serotonina e dopamina (AGAWA et al, 2008; CARROLL, TAYLOR e GANDEVIA, 2017).

A serotonina, em altas concentrações cerebrais, está envolvida nesta falha da sinalização central. Durante exercícios físicos de longa duração, ocorre uma maior utilização de ácidos graxos livre pela musculatura esquelética. Estes ácidos graxos livres deslocam o triptofano, que é um precursor de serotonina, podendo atravessar a barreira sanguínea cerebral, aumentando assim sua concentração cerebral. Este aumento da concentração ocasiona uma maior percepção de esforço e aumento do ciclo circadiano (NEWSHOLME and ACWORTH, 1987; ROSSI e TIRAPEGUI, 2004) (Figura 1).

Figura 1. Metabolismo da serotonina durante exercício de longa duração



(A = albumina; AGL = Ácidos Graxos Livres; ACR = Aminoácidos de cadeia ramificada; NA = Aminoácidos neutros; TRP = Triptofano; 5-HT = Serotonina)

Fonte: Rossi e Tirapegui, 2004 – reprodução

A dopamina é um neurotransmissor também envolvido neste processo. Em baixas concentrações, ela perde eficácia na inibição de parte da síntese e metabolismo de serotonina, antecipando o aparecimento de falhas na sinalização central (KIRKENDALL, 2000). Assim, é possível perceber que a falha na sinalização central é uma associação do aumento da serotonina, com uma diminuição da dopamina (CORDEIRO et al., 2017).

Outro fator que pode interferir é o aumento do fluxo sanguíneo cerebral. Sabemos que a regulação e um possível aumento neste fluxo sanguíneo é vital para um bom funcionamento cerebral e, o exercício realizado em uma intensidade próxima a 65% do VO_2 máximo se apresenta como uma ótima ferramenta para que isso ocorra (BAILEY et al., 2013; ZIMMERMAN et al., 2014). Entretanto, este aumento pode estar atrelado ao aumento das concentrações de serotonina (ANTUNES et al., 2006).

O aumento deste fluxo sanguíneo cerebral com exercício acontece, em resumo, por conta do aumento do débito cardíaco, concomitante com a estimulação da produção de óxido nítrico, resultando assim em maior disponibilidade de recursos metabólicos e eliminação de resíduos, facilitando os aspectos cognitivos e as respostas neurais (PONTIFEX et al., 2018; FURLONG et al., 2020).

Com relação aos neurotransmissores, Agawa et al. (2008) em um estudo com corrida de longa duração, mostra que as concentrações de serotonina logo após o exercício podem subir 50%, quando comparados com os níveis anteriores a corrida, números que já são capazes de gerar falhas na sinalização central.

A dopamina, outro neurotransmissor envolvido no processo, foi abordado com clareza em uma revisão de Cordeiro et al. (2017). Nesta revisão, os autores trazem uma série de estudos que mostram a diminuição das concentrações de dopamina em casos de falhas na sinalização central e a possível interação do aumento da serotonina com a diminuição da concentração de dopamina como o principal fator para este aparecimento.

Furlong et al. (2020) em seu estudo abordando o aumento do fluxo sanguíneo cerebral, relatou que exercícios aeróbicos com uma intensidade de 65% a 95% do VO_2 máximo é capaz de aumentar de 25% a 30% a velocidade sistólica média da artéria cerebral, influenciando de forma positiva a questão cognitiva destes corredores (VIVAR e PRAAG, 2017).

Embora possuímos todas essas informações, a literatura científica ainda apresenta uma lacuna quando não especifica estes efeitos em determinadas situações, como as corridas de 10km.

3.2.2 Sinalização periférica de fadiga

Uma falha na sinalização periférica de fadiga é uma limitação de processos na unidade motora, assim ocorrendo em neurônios motores, nervos periféricos, ligações neuromusculares ou fibras musculares, também podendo ser causada por possíveis eventos energéticos, comprometendo a contração muscular (FITTS, 1996).

Normalmente, logo após a conclusão da atividade física, praticantes de diversas modalidades esportivas apresentam altos índices de creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e lactato (LAC) no sangue, sendo estes considerados marcadores desta falha de sinalização (SMITH, 2004; SANTOS, et al. 2016).

A CK é uma enzima intracelular que tem função, a de quebra da creatina fosfato (PC) para a ressíntese de trifosfato de adenosina (ATP) e essa enzima pode ser encontrada em três diferentes isoformas CK-MM, CK-MB e CK-BB (BRANCACCIO, MAFFULLI and LIMONGELI, 2007).

Durante o exercício vigoroso, a capacidade metabólica pode ser excedida. A concentração de CK no sangue aumenta devido à sua liberação no ambiente intracelular estimulado pela intensidade do exercício e pelas características mecânicas da contração muscular. Este aumento pode ser até 100 vezes 8 horas após o exercício. Esse vazamento de CK do ambiente intracelular para o sangue, ocorre devido a danos na estrutura celular do músculo esquelético (BRANCACCIO, MAFFULLI and LIMONGELI, 2007).

A LDH é uma enzima que catalisa o lactato para a oxidação do piruvato, concomitante com a coenzima NAD⁺, estando presente no citoplasma de todas as células do corpo (BRANCACCIO, MAFFULLI and LIMONGELI, 2007).

Assim como a CK, a concentração de LDH no sangue também é aumentada após exercícios que desafiam a capacidade muscular. Exercícios como maratonas podem fazer com que a concentração sanguínea de LDH aumente significativamente por até duas

semanas, embora a literatura mostre que as maiores concentrações podem ser encontradas logo após o exercício (KOBAYASHI, et al, 2005; SANTOS, et al, 2016).

Um estudo com meia-maratonistas analisou as concentrações de CK e LDH antes e após uma corrida de 21.097km e verificou que logo após o término da corrida, as concentrações de LDH estavam aproximadamente 22% mais alto e o níveis de CK estavam aproximadamente 40% mais alto, quando comparados com as concentrações antes da corrida (LIPPI et al., 2008).

Em um estudo que avaliou as concentrações sanguíneas de CK e LDH em corredores de 10km e meia-maratona, foi apresentado um aumento semelhante destas concentrações nas duas distâncias, com um aumento aproximado de 30% nas concentrações de CK e 20% nas concentrações de LDH (RYU et al., 2016). Este aumento em atletas recreacionais é o suficiente para atrapalhar a performance durante e atrasar a recuperação pós corrida.

O LAC é oriundo da glicólise anaeróbia, precisamente do sistema láctico, responsável pela combustão parcial da glicólise ou glicogênio. A quebra de uma dessas duas moléculas formará ácido láctico, ácido logo convertido a lactato (BANGSBO et al, 1990).

Quando encontrado em grandes quantidades, o LAC está associado com quantidades significativas de Íons de Hidrogênio (H^+). Este acúmulo de LAC concomitante com Íons de H^+ é um dos mais difundidos pela literatura como causador de falhas na sinalização de origem periférica (BANGSBO and JUEL, 2006).

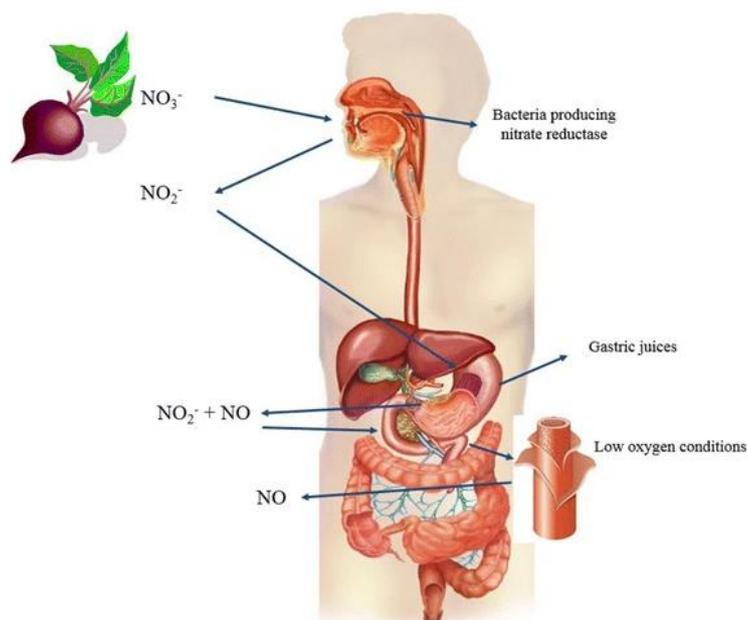
Diversos estudos vêm mostrando dados que mostram que uma corrida prolongada e/ou em alta intensidade, como as corridas de 10km e meia maratona, apresentam ao seu final altas concentrações sanguíneas de LAC dos corredores, sendo inclusive um marcador de esforço do indivíduo (SANTANA et al., 2019; QUITTMANN et al., 2020).

3.3 Nitrato

O nitrato é um ânion inorgânico presente no ambiente, principalmente ar e a água consumida pela população, e também em diversos alimentos, principalmente os legumes,

como aipo, beterraba, alface, espinafre, alimentos estes que contém em média 250mg de nitrato (4mmol) por 100g do alimento (TAMME et al., 2004; JONES, 2014). Após ser consumido, este nitrato começa a circular pelo plasma, com uma meia-vida média de 5 horas. Sendo absorvido no sangue, cerca de 25% é recolhido pelas glândulas salivares, através de um transporte ativo, e concentra-se na saliva, sendo o restante excretado pelos rins. O nitrato concentrado na saliva é convertido a nitrito devido a ação de bactérias comensais facultativas, que residem em criptas sobre a superfície da língua. Uma vez na boca, este nitrito é novamente ingerido, sendo convertido à oxido nítrico no estômago, devido a sua acidez (LUNDBERG & GOVONI, 2004; GOVONI et al., 2008; CLEMENTS, LEE & BLOOMER, 2014; JONES, 2014; DOMINGUEZ et al., 2018) (Figura 2).

Figura 2. Conversão Nitrato - Nitrito - Óxido Nítrico



Fonte: Dominguez et al., 2018 – reprodução

Antes do nitrato ser apontado na literatura como a única fonte de oxido nítrico que apresenta resultados para quem o ingere, acreditava-se que o mesmo era gerado exclusivamente através da oxidação da L-Arginina, em uma reação catalisada pela enzima

de óxido nítrico sintase (NOS) (VANHATALO et al., 2011; BOORSMA, WHITFIELD & SPRIET, 2014; MAUGHAN et al., 2018).

Govoni (2008) descreve o óxido nítrico com um radical livre gasoso, que pode se difundir livremente através das membranas da célula-alvo.

O óxido nítrico possui diversas funções biológicas, como no sistema cardiovascular, desempenhando um importante papel no tônus vascular, por meio do relaxamento da musculatura lisa dos vasos, promovendo a dilatação vascular, e por consequência a redução da pressão arterial (MUNZEL e DAIBER, 2018; DEMARTINO et al., 2019).

No sistema nervoso, o óxido nítrico atua na melhora da comunicação neural, devido ao aumento do fluxo sanguíneo cerebral, promovendo a sinalização entre as células nervosas, refletindo positivamente nos processos de memória, aprendizado, dor, sono, regulação da respiração mitocondrial (BRYAN et al., 2008; LARSEN et al., 2014; TRINITY, BROXTERMAN e RICHARDSON, 2016).

O sistema imunológico também se beneficia dos efeitos do óxido nítrico, pois este age em diversos fatores da resposta inflamatória, além de atuar no endotélio dos vasos, aumentando a dilatação vascular e promovendo a hiperemia, um dos sinais cardinais da inflamação (MORREL et al., 2005).

Um dos efeitos mais relatados na literatura científica com relação ao nitrato é o aumento do fluxo sanguíneo para o músculo, favorecendo a captação de nutrientes para o músculo esquelético e a contração muscular, impedindo a liberação de cálcio em excesso e, subsequentemente, melhorando o custo de produção de ATP (STAMLER & MEISSNER 2001; PINNA et al., 2014;).

Esses efeitos ocorrem devido a sua principal característica, a vasodilatação, ocasionada pela sinalização de relaxamento do músculo liso dentro do endotélio dos vasos sanguíneos (BRYAN, et al. 2008; CLEMENTS, LEE & BLOOMER, 2014).

O mecanismo responsável pelo relaxamento dos vasos sanguíneos ocorre através da ativação da enzima guanilato ciclase solúvel (GCs) no tecido muscular liso. A enzima

GCs é uma proteína heterodimérica solúvel, existente em praticamente todas as células de mamíferos e ela atua como o principal alvo intracelular para o NO.

A ativação da GCs pelo NO tem como resultado um aumento na conversão de trifosfato de guanosina (GTP) no segundo mensageiro 3', 5' guanosina monofosfato cíclico (GMPc), regulando diversos aspectos na função celular através de interação com proteína quinases dependentes de GMPc, nucleotídeos cíclicos de canais iônicos fechados, fosfodiesterases de nucleotídeo cíclico e possivelmente outras proteínas (GOVONI, 2008).

Apesar dos benefícios comprovados pela literatura, o consumo do Nitrato pode desencadear a produção de meta-hemoglobina, estado da mioglobina onde ela não se liga ao oxigênio, diminuindo a eficiência do transporte de oxigênio (NASCIMENTO et al.2008).

Isso ocorre pois há uma oxidação do ferro na hemoglobina do estado ferroso (Fe^{2+}) para o estado férrico (Fe^{3+}), o que impede o transporte de oxigênio, gerando hipóxia (MOLLER e SKIBSTED, 2002; COOPER, et al. 2002).

3.3.1 Suplementação de nitrato no exercício físico

O nitrato como precursor da formação de NO é uma descoberta recente, sendo um grande alvo dos pesquisadores na última década, uma vez que ele pode ser tratado como um suplemento ergogênico natural, devido a suas origens de fontes naturais (LANSLEY et al., 2011). Portanto, diversos estudos vêm sendo realizados no objetivo de se estabelecer qual o melhor método de aplicação do nitrato, em ambos os quesitos, qual o público que tem melhores resultados com essa suplementação e quais os tipos de esportes.

Em sua maioria, as fontes de nitrato utilizadas nos estudos presentes na literatura são obtidas através do nitrato de sódio (BESCOS et al., 2011; BESCOS et al., 2012; SANTANA et al., 2019) e do suco de beterraba (TREXLER et al., 2019; CASTRO et al., 2019). Além disso, outros recursos vêm sendo utilizados para a obtenção do nitrato, como a utilização de géis com extrato de beterraba (OLIVEIRA et al., 2018).

Quando ingerido na forma de suco de beterraba, a dosagem consumida de nitrato com efeitos significativos varia aproximadamente de 4,1mmol à 16,8mmol ou 250mg à

1g (WYLIE et al., 2013a; WYLIE et al., 2013b), entretanto Jones et al. (2018) relata que a média utilizada nos estudos com efeitos benéficos varia entre 5mmol e 9mmol (aproximadamente de 300mg à 550mg).

Menos comumente usado, o nitrato de sódio é ingerido na dosagem de 10mg/Kg de peso corporal do indivíduo, e/ou 0,1mmol/Kg de peso corporal (BESCOS et al., 2012; BESCOS et al., 2011).

Essa quantidade de nitrato é consumida em dosagens que variam de 1,5h à 3 horas antes do treino, em uma única dosagem (STANAWAY et al., 2019; KENT et al., 2019), ou até 5 vezes ao dia, divididas em dosagens iguais (WYLIE et al., 2013a; WYLIE et al., 2013b SANTANA et al., 2019).

O tempo de suplementação é outro fator que não está completamente estabelecido. Diversos estudos foram realizados, a maioria com uma média de 2 a 6 dias, mostrando resultados significativos em participantes treinados (JONES, 2014). Entretanto, Vanhatalo et al (2011) mostraram que 15 dias de suplementação também gera efeitos benéficos em participantes treinados.

Um estudo do nosso grupo de pesquisas também mostrou que 28 dias de suplementação crônica de nitrato é eficaz na melhora da performance atletas recreacionais de corrida de rua, mostrando assim que a suplementação de nitrato gera benefícios com até um mês de suplementação (SANTANA et al., 2019).

Há na literatura pesquisas com a suplementação aguda de nitrato, porém os resultados ainda são controversos, com alguns estudos apresentando aumentos significativos na performance (JODRA et al., 2019; WILLIAMS et al., 2020), e outros não apresentando estes aumentos significativos (GARNACHO-CASTANO et al., 2018; LEE et al., 2019). Um fato semelhante entre os estudos que não apresentaram melhora significativa é que os autores utilizaram doses entre 5 e 9mmol de nitrato e, eles sugerem que para uma suplementação aguda, talvez doses maiores que essa sejam mais recomendadas.

O tempo de duração do exercício é um fator não totalmente explorado, quando relacionado a suplementação de nitrato.

Segundo Jones (2014) os maiores efeitos ocorreram quando foi realizada a suplementação crônica de nitrato e o exercício não ultrapassava 30 minutos.

O mesmo estudo citado anteriormente que foi realizado por nosso grupo de pesquisas, mostrou que a suplementação de nitrato foi eficaz em um protocolo com um teste de 10km de corrida de rua para atletas recreacionais (SANTANA et al., 2019). Entretanto, um estudo de Shannon et al., (2017) mostrou que a suplementação de nitrato não demonstrou oferecer melhoras na performance de atletas de alto rendimento, possivelmente, devido ao público que realizou o teste.

Está estabelecido na literatura que a suplementação de nitrato não promove uma melhora na performance de atletas de alto rendimento, independentemente do método de suplementação, mostrando que é mais indicado para atletas recreacionais (PORCELLI et al., 2015; SHANNON et al., 2017).

4. Materiais e métodos

Este estudo foi classificado como estudo experimental, randomizado, cruzado e controlado, no qual a suplementação foi oferecida conforme o modelo duplo-cego.

Todos os participantes leram e assinaram o Termo de Consentimentos Livre e Esclarecido (TCLE) e todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o número CAAE: 92012518.5.0000.0089 (Anexo 1).

4.1 Caracterização da amostra

Foram selecionados 11 indivíduos saudáveis do sexo masculino para este estudo. Entretanto, destes 11 indivíduos selecionados, dois foram excluídos por não comparecerem aos dias de testes, totalizando assim 9 participantes. Esta pesquisa foi realizada na rua da raia de remo da Universidade de São Paulo (USP) e os dados foram analisados nas dependências da Universidade São Judas Tadeu (USJT).

Foram incluídos no trabalho sujeitos considerados saudáveis através da apresentação de um atestado médico para a prática de atividade física. Os praticantes deveriam ter no mínimo 2 anos de experiência em provas e ter um mínimo de 2 provas

realizadas na mesma distância em que realizará o teste, com um “*pace*” médio de 5:00 à 5:20min/km e ainda estar dentro da faixa etária preconizada, de 20 a 40 anos.

Foram utilizados como critério de exclusão do trabalho que os participantes que não realizassem a ingestão da suplementação da maneira indicada ou que não seguissem a dieta pré-testes recomendada. Além disso, os participantes que não completassem seus respectivos testes ou que não chegassem ao local de coleta com até 15 minutos após sua finalização do teste e aqueles que fizessem o uso de suplementos alimentares nos últimos 6 meses e/ou durante o protocolo experimental que de algum modo interferisse nos resultados. Apenas dois participantes se encaixaram no critério de inclusão conforme citado acima.

É importante salientar que esta tese foi desenvolvida em meio a uma pandemia do COVID-19, o que acabou por limitar o número de participantes no estudo, assim como outras análises que foram programadas para serem desenvolvidas.

4.2 Desenho experimental

Após a seleção dos participantes, seus respectivos treinamentos foram padronizados visando evitar a influência do mesmo nos resultados finais.

Os participantes foram instruídos a manterem suas dietas habituais e seus afazeres diários, assim como manterem sua rotina de exercícios físicos semanais. Na semana de coletas, uma lista de restrição alimentar, contendo os principais alimentos ricos em nitrato foi fornecida a todos os participantes e todos os alimentos presente nessa lista deveriam ser evitados, evitando o comprometimento dos resultados (Anexo 2).

Em dois dias anteriores ao teste foram realizadas as primeiras coletas de dados, denominado como momento PRÉ, estabelecendo assim a descrição da amostra. Os participantes foram orientados a chegarem no momento da coleta com aproximadamente oito horas em jejum, para evitar alterações em todas as análises sanguíneas e composição corporal. Neste mesmo dia, foram entregues as suplementações para todos os participantes.

Os corredores foram divididos randomicamente, conforme modelo duplo-cego em dois grupos: nitrato (NIT) e controle (CON).

Para o grupo NIT, a suplementação foi realizada através de uma bebida esportiva enriquecida com nitrato (Beet it Sport 3000®) (Figura 3). Foi administrada uma dose de

70ml do produto, diluídos em 300ml de água, conforme estabelecido pela empresa, totalizando 800mg de nitrato, ingeridos 3 horas antes do início da prova para os corredores de 10km.

Figura 3. Suco de beterraba concentrado enriquecido com nitrato (Beet it Sport 3000®)



Para o grupo CON foi administrada uma bebida de 375ml de uma mistura de água, bebida em pó sabor groselha, bebida em pó sabor uva e bebida em pó sabor tomate, mistura esta que se mostrou com a coloração, o paladar e o olfato semelhante a bebida enriquecida com nitrato. A recomendação do horário de ingestão da bebida foi semelhante ao grupo NIT.

Esse procedimento se fez necessário para que os participantes e o pesquisador não percebam em que grupo estão inseridos, validando o estudo como modelo duplo-cego.

No dia dos testes, foi montada uma tenda para acomodar todos os corredores e os equipamentos necessários para a análise. Os corredores foram orientados a seguirem uma alimentação habitual no dia da prova, evitando somente os alimentos proibidos anteriormente que pudessem interferir nos resultados. No momento dos testes, todos os corredores tiveram acesso a água a cada 5km.

Todos os participantes foram induzidos pelos pesquisadores a realizarem o teste na maior intensidade possível a ser alcançada. Logo após os testes, os participantes se deslocaram para as tendas para dar início as análises, momento este denominado como momento POS, em no máximo 15 minutos, para os resultados serem os mais aproximados ao término da prova. Os corredores foram liberados para realizarem a hidratação após a prova com um limite de 300ml de água.

4.3 Coleta de variáveis

Em ambos os momentos (PRÉ e PÓS), primeiramente foram aplicados os testes cognitivos (Teste de Stroop e Teste de Trilhas concomitante com a pergunta da percepção subjetiva de esforço (BORG) e logo após estes testes, foram realizadas as coletas sanguíneas.

O sangue coletado dos participantes foi armazenado em uma caixa de isopor com gelo para preservação. Logo após o término da coleta, esta caixa com o sangue armazenado foi transportada para a Universidade São Judas Tadeu, para posterior análise das coletas sanguíneas.

Os participantes foram avaliados através da sinalização periférica, sinalização central, desempenho, concentração de meta-hemoglobina e nitrito no sangue e composição corporal, no momento PRÉ, com os corredores em jejum de aproximadamente oito horas e no momento PÓS, nas distâncias de 10km, exceto a análise de composição corporal.

Para avaliar a sinalização periférica dos corredores foram analisados:

- Concentração de Creatina Quinase e Lactato Desidrogenase: As amostras de sangue para avaliação dessas concentrações foram coletadas em tubos a vácuo contendo anticoagulante (0,004% EDTA). As análises das amostras sanguíneas foram realizadas no Laboratório do Movimento Humano da Universidade São Judas. Após a centrifugação, ocorreu a alíquota do plasma, que primeiramente foi congelado e armazenado a -80°C .

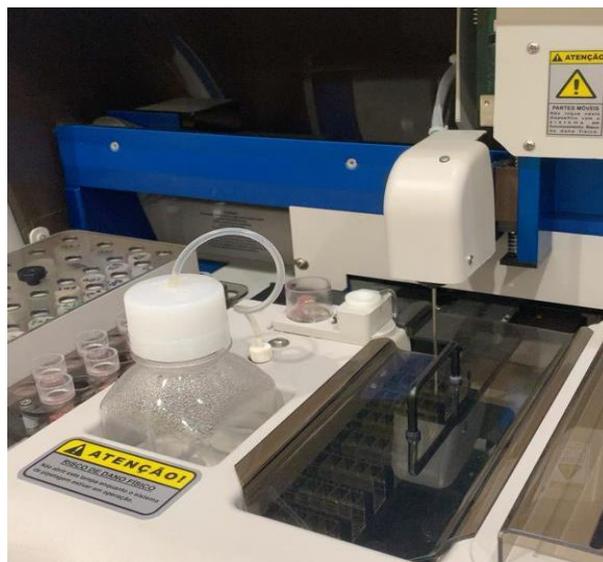
A determinação da creatina quinase foi feita utilizando o kit CK-NAC Liquiform da Labtest no aparelho LabMax100 também da Labtest (figura 4). Antes de realizar o doseamento de CK das amostras foi necessário a realização da calibração do equipamento com um calibrador próprio contido no kit afim de se obter resultados com exatidão.

Para o preparo do calibrador, precisou-se reconstituir com água destilada o pó contido dentro do frasco contendo o calibrador, após a adição de água destilada até a marca indicada no frasco, foi necessário esperar por 10 minutos e homogeneizar de maneira suave por inversão. Após homogeneizado a solução foi colocado no equipamento, na área onde se colocam as amostras (Item B da figura). Logo após este procedimento foi necessário o preparo do reagente de trabalho.

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica de volume variável, pipetou-se 400 microlitros do reagente 1 mais 100 microlitros do reagente 2, ambos os reagentes contidos

no kit. Estes reagentes foram pipetados em um frasco específico do equipamento e colocado na área onde ficam todos os reagentes de trabalho (item A da figura). Após o processo de preparo dos reagentes realizou-se a calibração do equipamento e em seguida realizou-se as análises das amostras.

Figura 4. Aparelho LabMax 100



A determinação de lactato desidrogenase foi feita utilizando o kit LDH Liquiform da Labtest no aparelho LabMax100 também da Labtest. Assim como o CK, antes de realizar as análises dos participantes, foi realizada a calibração do equipamento, entretanto o LDH não possui um calibrador próprio, sendo feita a calibração através do Calibra H e Qualitrol 2H, dois reagentes responsáveis pela calibração dos ensaios bioquímicos e de controle de qualidade do equipamento. E para este procedimento foi necessário colocar em duas cubetas de amostra o Calibra H e o Qualitrol 2H e preparar o reagente de trabalho, pipetando 400 microlitros do Reagente 1 e 100 microlitros do Reagente 2. Após calibração, realizou-se as análises das amostras.

- Concentração de lactato no sangue: As amostras de sangue para avaliação dessas concentrações foram coletadas em tubos a vácuo contendo anticoagulante (0,004% EDTA). As análises das amostras sanguíneas foram realizadas no Laboratório do Movimento Humano da Universidade São Judas. Após a centrifugação, ocorreu a alíquota do plasma, que foi congelado e armazenado a -80°C .

Para realizar a análise, foi utilizado um equipamento analisador de lactato (Yellow Springs®, YSI 2500) (figura 5). O sangue coletado de todos os participantes, após retirado do armazenamento, foi colocado em uma placa de análise do aparelho, onde foi posteriormente analisado.

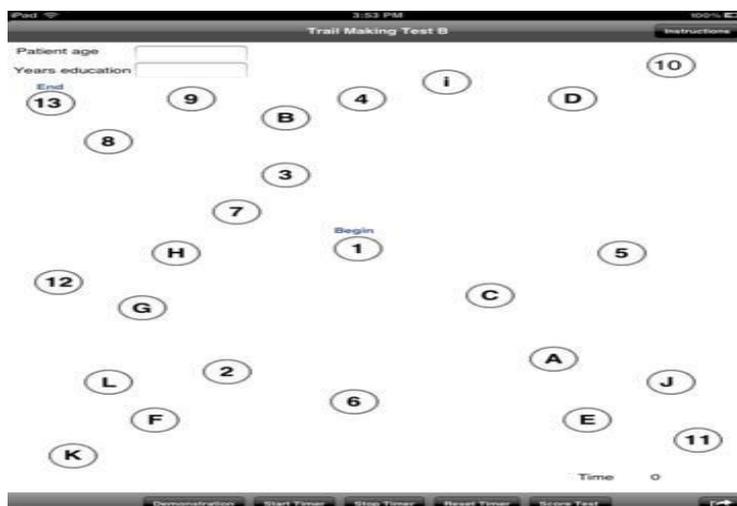
Figura 5. Aparelho de análise da concentração sanguínea de lactato (YSI 2500)



Para avaliar a sinalização central dos corredores foram analisados:

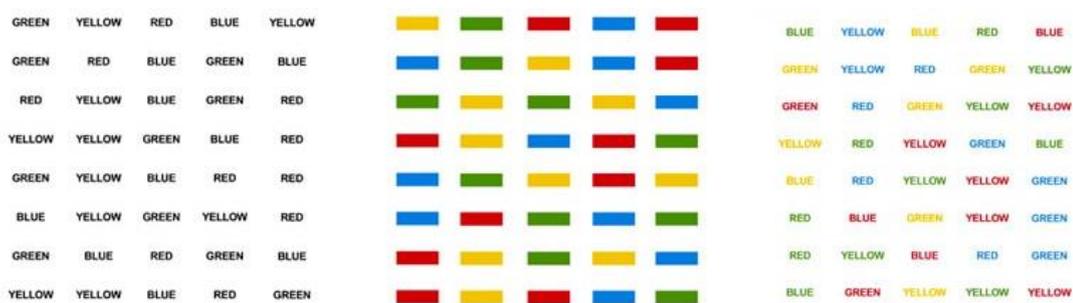
- Teste de trilhas: Teste cognitivo onde o participante recebe uma folha de papel com uma combinação de 25 algoritmos (letras e números) de maneira aleatória (Teste de Trilhas B). No menor tempo possível, o corredor deveria ligar os pontos de uma forma pré-determinada (número 1 ligar na primeira letra do alfabeto, e assim sucessivamente) no menor tempo possível (fig. 6) (CORRIGAN & HINKELDEY, 1987).

Figura 6. Teste de Trilhas B



- Teste de Stroop Color: Teste cognitivo onde os participantes realizaram três análises com nomeação de cor e leitura de cor. Na primeira análise, os nomes não apresentam cor e deveria ser realizado somente a leitura, realizando assim uma análise cognitiva de fatores automatizados. A segunda análise é semelhante com relação ao objetivo, sendo uma análise de fatores automatizados da função cognitiva e o participante tinha como obrigação falar em voz alta a cor que estava vendo. Na terceira análise, os nomes eram apresentados com cores impressas de forma incongruente, para verificar a cognição do participante com relação a inibição um processo mais automatizado, lendo a palavra, e não a cor que era apresentada (TRENERRY et al., 1989; SCARPINA e TAGINI, 2007) (Figura 7).

Figura 7. Teste de Stroop Color



A avaliação do desempenho foi realizada através do tempo dos participantes nas chegadas dos testes de 10km. Os testes foram conduzidos de maneira cruzada (os participantes realizaram o teste com a suplementação em um dia e com a substância controle em outro dia), sendo a comparação realizada entre os próprios participantes dentro dos grupos.

Para que a intensidade empregada no teste não interferisse diretamente nos resultados do teste seguinte, foi dado um intervalo de uma semana para a realização dos testes de 10km.

O teste foi realizado em percurso pré-determinado na Universidade de São Paulo, com distância de 5km. Assim, o participante do teste de 10km realizava duas voltas no percurso, sendo que a cada volta todos passavam pela tenda de coleta, onde eram entregues os copos de água. Era proibido a ingestão de água além deste momento.

A análise de composição corporal, realizada somente no momento PRÉ, com o intuito de descrever a amostra, foi através de uma bioimpedância (InBody 120). O método de medição é a segmentar Direta Multi-frequência DSM-BIA (figura 8).

Figura 8. Aparelho de Bioimpedância (Inbody 120)



Os participantes se apresentaram em jejum de alimentos sólidos entre quatro e seis horas e jejum de líquidos de duas horas a três horas, conforme as orientações de utilização do aparelho. Durante o teste, os participantes deverão estar com a vestimenta adequada (short leve). Além disso, acessórios de metais (brincos, correntes, relógios, etc.) eram proibidos.

Os dados obtidos pela bioimpedância e que foram utilizadas foram as seguintes: índice de massa corporal, peso corporal, massa muscular livre de gordura (massa magra), massa gorda e percentual de gordura corporal.

Concentração de nitrito e meta-hemoglobina: As amostras de sangue para avaliação da concentração de nitrito e meta-hemoglobina foram coletadas em tubos a vácuo contendo anticoagulante (0,004% EDTA). As análises das amostras sanguíneas

foram realizadas no Laboratório do Movimento Humano da Universidade São Judas. Após a centrifugação, ocorrerá a alíquota do plasma, que será congelado e armazenado a -80°C para posterior análise.

Para a determinação do nitrito em soro foi adaptada uma técnica na qual consiste em uma técnica para determinar a quantidade de nitrito em produtos cárneos.

Reagente de cor ou Solução de alfa-naftol

Para o preparo desta solução, foi aquecido 360mL de água destilada e 50mL de ácido acético a 50 graus. Logo após aquecimento a solução foi transferida para um frasco âmbar contendo 0,25g de ácido sulfanílico, agitou-se até completa dissolução e foi adicionado 0,20g de alfa-naftol, após completa homogeneização a solução esfriou em temperatura ambiente. Em temperatura ambiente adicionou-se 90ml da solução de NH_4OH 10%.

Solução tampão pH 9,6 – 9,7

Em um balão volumétrico de 1000mL já contendo 500mL de água destilada, adicionou-se 20mL de ácido clorídrico concentrado, homogeneizou e adicionou 50mL de hidróxido de amônio concentrado e completou-se o volume com água destilada.

Solução Padrão

Para o preparo da solução padrão de nitrito de sódio primeiramente o nitrito de sódio foi seco em uma estufa a 105 graus. Depois de seco, pesou-se 0,2g de nitrito e diluiu em um balão volumétrico de 1.000 mL contendo água destilada. Obtendo uma solução na concentração de 0,2g/L.

Solução padrão de trabalho

Após o preparo da solução padrão de nitrito de sódio, foi necessário preparar a solução padrão de trabalho de nitrito de sódio a $8\ \mu\text{g/mL}$ e para isso pegou-se 10mL da

solução padrão e diluiu em um balão volumétrico de 250mL contendo água destilada, depois de homogeneizado, completou-se o volume.

Curva de calibração

Para construção da curva de calibração foi utilizado 8 balões volumétricos de 50mL, na cada qual será aliquoteado um volume diferente da solução padrão de trabalho, balão um 0,125mL, balão dois 0,25 mL, balão tres 0,5 mL, balão quatro 1,0 mL, , balão cinco 3,0 mL, balão seis 4,0 mL, balão sete 5,0 mL, balão oito 6,0 mL, afim de obter as seguintes concentrações de nitrito, como mostra a tabela 1 logo abaixo:

Tabela 1. Curva de calibração com a concentração de NO₂ µg/mL em cada balão volumétrico

Balão volumétrico	Concentração NO ₂ µg/mL
1	0,02
2	0,04
3	0,08
4	0,16
5	0,48
6	0,64
7	0,80
8	0,96

Logo após esta etapa, em cada balão volumétrico foi pipetado 10mL de solução tampão pH 9,6-9,7 e 20mL do reagente de cor. Completou-se o volume do balão com água destilada, homogeneizou-se e logo após foram colocados em banho maria a 30 graus por 30 minutos para que ocorra a reação de cor. Depois os balões esfriaram em temperatura ambiente e foram lidos a 474nm, usando como branco 10 mL do reagente de cor e água destilada em um balão volumétrico de 25mL.

A tabela 2, logo abaixo, mostra a relação do número do balão volumétrico com a concentração e valor de absorbância.

Tabela 2. Relação do número do balão volumétrico com a concentração e valor de absorvância.

Balão Volumétrico	Concentração µg/mL	Absorvância
1	0,02	0.001
2	0,04	0.010
3	0,08	0.046
4	0,16	0.071
5	0,48	0.205
6	0,64	0.254
7	0,80	0.307
8	0,96	0.420

Determinação de nitrito em amostra

Primeiramente as amostras foram analisadas no espectrofotômetro a 474nm. Logo após esta etapa pipetou-se em um tubo de ensaio 400 µL da amostra, 200 µL da solução tampão e 400 µL do reagente de cor, em seguida realizou-se a homogeneização e a amostra foi colocada em banho maria por 30 minutos a 30 graus. Após o tempo de 30 minutos, a amostra esfriou em temperatura ambiente e foi lida no espectrofotômetro a 474nm, usando como branco 10 mL do reagente de cor e água destilada em um balão volumétrico de 25mL.

4.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos em média e desvio padrão. Foi realizado um teste de normalidade da amostra (Shapiro-wilk). Após a verificação da normalidade, as variáveis foram analisadas através do teste T de Student (Tempo total na corrida de 10km) e ANOVA de dois fatores, com pós-teste de Tukey, quando necessário, para identificar a existência de diferenças significativas entre os diferentes grupos e em diferentes fases de um mesmo grupo. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$ e o software utilizado foi SPSS 21.0 para Windows.

5.0 Resultados

5.1 Caracterização da amostra e composição corporal

A tabela 3 apresenta os dados das características relacionadas aos participantes. Os dados coletados para esta caracterização foram: Idade, tempo de experiência, frequência semanal de treinos, média de km percorridos por semana, pace médio, melhor tempo de 10km.

Tabela 3. Caracterização da amostra

	Participantes 10km (n=9)
Idade	33,63 ± 5,13
Tempo de experiência	7,00 ± 3,85
Freq. Semanal de treinos*	3,75 ± 1,58
Média km semanais*	28,75 ± 11,26
Pace médio*	51,00 ± 3,74
Melhor tempo em 10km*	50,00 ± 4,93

* Últimos 3 meses

A tabela 4 apresenta os dados referentes a composição corporal dos participantes dos testes de 10km. Os dados coletados que representam a composição corporal são: Altura, peso, massa livre de gordura (massa magra), massa gorda, percentual de gordura e índice de massa corporal (IMC).

Tabela 4. Composição corporal dos participantes dos testes de 10km

	Participantes 10km (n=9)
Altura	1,776 ± 0,05
Peso corporal (Kg)	78,64 ± 4,86
Massa magra (Kg)	37,62 ± 2,42
Massa gorda (Kg)	12,83 ± 3,40
IMC	24,93 ± 1,49
% Gordura	16,23 ± 3,73

5.2 Concentração sanguínea de Nitrito e Meta-hemoglobina

A tabela 5 apresenta as comparações intergrupos e intragrupos referentes a concentração de nitrito plasmático dos participantes em repouso e logo após os testes de 10km.

Tabela 5. Concentração sanguínea de nitrito antes e após os testes de 10km.

Nitrito (µg/mL)	Controle (n=9)	Nitrato (n=9)
Pré	0,78 ± 0,51	0,97 ± 0,63
Pós	0,80 ± 0,67	1,59 ± 0,61 ^{*a}

* Quando comparado ao momento pré

^a Quando comparado ao grupo controle

Analisando os dados acima referente a concentração sanguínea de nitrito dos participantes, podemos verificar que tanto na comparação intergrupos quanto na comparação intragrupos, o grupo NIT apresentou valores significativamente maiores quando comparado ao grupo CON.

Quando a comparação foi realizada intragrupos, o grupo NIT apresentou um aumento significativo na concentração sanguínea de nitrito no momento pós, quando comparado com o momento pré ($p = 0,010$). Entretanto, o grupo CON não apresentou diferenças significativas na mesma comparação ($p = 0,919$).

Quando realizada a comparação intergrupos, o grupo NIT e o grupo CON não apresentam diferenças significativas no momento pré ($p = 0,501$). No momento pós, o grupo NIT apresentou diferenças significativas quando comparado ao grupo CON ($p = 0,020$).

A tabela 6 apresenta as comparações intergrupos e intragrupos referentes a concentração sanguínea de meta-hemoglobina dos participantes em repouso e logo após os testes de 10km.

Tabela 6. Concentração sanguínea de meta-hemoglobina antes e após os testes de 10km.

Meta-Hemoglobina (%)	Controle (n=9)	Nitrato (n=9)
Pré	7,94 ± 2,92	6,67 ± 3,04
Pós	7,02 ± 3,21	7,68 ± 4,01

Após a análise dos dados da tabela 6, podemos observar que tanto na comparação intragrupos (NIT: $p = 0,534$; CON: $p = 0,583$) quanto na comparação intergrupos (Pré: $p = 0,449$; Pós: $p = 0,728$), ambos os grupos não apresentaram diferenças significativas.

5.3 Desempenho

A tabela 7 apresenta os dados relacionados ao desempenho dos participantes no teste de 10km quando realizaram a ingestão da suplementação de nitrato (NIT) e não realizaram a suplementação da bebida controle (CON).

Tabela 7. Tempo total na corrida de 10km nos diferentes grupos

	Controle (n=9)	Nitrato (n=9)
Tempo 10km	54,36 ± 4,47	52,35 ± 4,34

Observamos que apesar do tempo entre os grupos apresentarem uma diferença considerável, não foram encontradas diferenças significativas quando realizada a comparação entre os grupos ($p = 0.288$).

5.4 Sinalização periférica de fadiga

Na tabela 8, apresentamos as comparações intergrupos e intragrupos referentes a concentração de lactato sanguíneo dos participantes em repouso e logo após os testes de 10km.

Tabela 8. Comparação da concentração de lactato dos participantes pós teste.

Lactato	Controle (n=9)	Nitrato (n=9)
Pré	0,60 ± 0,20	0,67 ± 0,22
Pós	1,73 ± 0,1*	1,67 ± 0,1*

* Quando comparado ao momento pré

Podemos observar que quando a comparação é realizada entre os momentos pré e pós do mesmo grupo, notamos que ambos os grupos apresentam um aumento significativo da concentração de lactato sanguíneo (CON: $p = 0,001$; NIT: $p = 0,000$).

Entretanto, quando a comparação é realizada entre os grupos, não foram apresentadas nenhuma diferença significativa (Pré: $p = 0,548$; Pós: $p = 0,409$).

A tabela 9 apresenta a comparação intergrupos e intragrupos dos grupos CON e NIT relacionados as concentrações de creatina quinase (CK) no sangue dos participantes.

Tabela 9. Comparação da concentração sanguínea de CK nos participantes

CK	Controle (n=9)	Nitrato (n=9)
Pré	244,62 ± 139,59	177,87 ± 65,94
Pós	348,87 ± 170,76*	201,87 ± 55,97a

* Quando comparado ao momento pré

a Quando comparado ao grupo controle

Analisando os dados acima referente a concentração sanguínea de CK dos participantes, podemos verificar que tanto na comparação intergrupos quanto na comparação intragrupos, o grupo NIT apresentou valores significativamente menores quando comparado ao grupo CON.

Na comparação intragrupos, o grupo CON apresentou um aumento significativo no momento Pós, quando comparado ao momento Pré ($p = 0,016$). O grupo NIT apresentou uma estabilidade nos seus resultados, não apresentando assim nenhuma diferença significativa ($p = 0,540$).

Quando a comparação é realizada intergrupos, os grupos NIT e CON não apresentaram diferenças significativas no momento Pré ($p = 0,242$). Entretanto, no momento pós, o grupo NIT apresentou valores significativamente menores, quando comparado ao grupo CON ($p = 0,036$).

Na tabela 10, apresentamos os dados relacionados a concentração sanguínea de LDH dos participantes antes e após o teste de 10km em uma comparação intragrupos.

Tabela 10. Comparação da concentração sanguínea de LDH antes e após os testes de 10km.

LDH	Controle (n=9)	Nitrato (n=9)
Pré	397,37 ± 161,06	384,77 ± 169,44
Pós	791,37 ± 357,78*	588,66 ± 358,0

* Quando comparado ao momento pré

Com estes dados apresentados, verificamos que quando a comparação é realizada dentro do grupo, o grupo CON apresenta um aumento significativo na concentração sanguínea de LDH ($p = 0,003$), resultado este diferente do grupo NIT, que não apresenta aumento significativo na concentração ($p = 0,085$).

Entretanto, quando a comparação é realizada entre os grupos, não são apresentadas diferenças significativas (Pré: $p = 0,878$; Pós: $p = 0,244$).

5.5 Sinalização central de fadiga

A tabela 11 mostra a comparação intragrupos e intergrupos do tempo total que os participantes realizaram o teste de TRILHAS antes e após a corrida de 10km.

Tabela 11. Comparação do tempo total de execução do teste de TRILHAS, antes e após a corrida de 10km.

TRILHAS	Controle (n=9)	Nitrato (n=9)
Pré	57,32 ± 14,29	59,00 ± 15,33
Pós	48,17 ± 11,40*	47,58 ± 10,28*

* Quando comparado ao momento pré

Com os dados do teste de TRILHAS apresentados, podemos verificar quando a comparação é realizada entre os grupos, não há diferenças estatísticas (Pré: $p = 0,819$; Pós: $p = 0,830$).

Na comparação intragrupos, ambos os grupos apresentaram uma diminuição significativa do tempo total de realização do teste de TRILHAS após a corrida de 10km, quando comparado ao teste realizado antes da corrida (CON: $p = 0,011$; NIT: $p = 0,001$).

Na tabela 12, analisamos os dados do tempo de realização do teste de Stroop Color em três momentos, antes e após a corrida de 10km, na comparação entre os grupos.

Tabela 12. Comparação do teste de Stroop Color em três momentos diferentes, realizados antes e após a corrida.

Stroop Color	Controle (n=9)	Nitrato (n=9)
Pré 1	10,38 ± 1,17	11,13 ± 1,70
Pós 1	10,17 ± 2,64	9,85 ± 1,06*
Pré 2	14,30 ± 2,41	14,09 ± 2,24
Pós 2	13,29 ± 3,93	11,69 ± 1,70£
Pré 3	26,56 ± 9,15	25,46 ± 6,05
Pós 3	21,20 ± 8,25♠	22,31 ± 3,32♠

* Quando comparado ao momento Pré 1

£ Quando comparado ao momento Pré 2

♠ Quando comparado ao momento Pré 3

Analisando os dados dos testes de Stroop Color, podemos visualizar que quando a comparação é realizada entre os grupos (intergrupos), não há resultados significantes em nenhum dos três momentos.

Entretanto quando a comparação é realizada dentro dos grupos (intragrupos), podemos verificar que o grupo NIT apresentou uma diminuição significativa no tempo de execução dos testes após a corrida de 10km, quando comparado ao momento pré corrida, nos três momentos de análises (NIT 1: $p = 0,041$; NIT 2: $p = 0,008$; NIT 3: $p = 0,016$). O grupo CON, por sua vez, apresentou uma diminuição significativa no tempo de execução do teste de Stroop Color somente no terceiro momento de análise (CON 1: $p = 0,740$; CON 2: $p = 0,247$; CON 3: $p = 0,022$).

6.0. Discussão

Para analisar os efeitos da suplementação de nitrato, é fundamental comprovar que a mesma se encontra de forma abundante no organismo do indivíduo. Lundberg et

al., (2008) afirma que as concentrações de nitrito no plasma sanguíneo são importantes marcadores para analisar a biodisponibilidade de óxido nítrico.

Diversos estudos mostram que há um aumento nas concentrações sanguíneas de nitrato e nitrito após a suplementação do suco concentrado de beterraba (Beet it Sport 3000®) (VANHATALO et al., 2010; WYLIE et al., 2013a; JONES et al., 2021).

Nosso estudo mostrou que uma suplementação de aproximadamente 12,5mmol de nitrato, duas horas antes de um exercício com duração média de 50 minutos (totalizando pouco menos de três horas entre a suplementação e a coleta de sangue) aumentou aproximadamente 65% da concentração sanguínea de nitrito, enquanto os indivíduos que do grupo CON mantiveram estes níveis estáveis. Este resultado é corroborado por uma série de artigos encontrados na literatura, que apontam que a suplementação de nitrato é capaz de aumentar entre 39% (doses menores do que a administrada neste estudo) e 400% (doses maiores que a administrada neste estudo) a concentração de nitrito no plasma (VANHATALO et al., 2010; JONVIK et al., 2016; WYLIE et al., 2019).

É importante salientar que apesar da diferença entre o aumento da concentração de nitrito no plasma entre os artigos, todos apresentam melhoras de performance nos seus respectivos trabalhos.

Outra análise que pode ser utilizada para verificar a eficiência da suplementação de nitrato, é através da concentração sanguínea de meta-hemoglobina. Há diversos fatores que podem ocasionar o aumento da concentração de meta-hemoglobina no sangue, como exercícios de alta intensidade e consumo de algumas substâncias, como o nitrato (MOLLER e SKIBSTED, 2002; COOPER, et al. 2002).

Nossos dados mostram que não houve uma diferença significativa na comparação do grupo NIT com o grupo CON e também quando a comparação foi realizada entre os momentos (Pré e Pós) no mesmo grupo, o que mostra que a suplementação aguda de aproximadamente 12,5 mmol de nitrato não é capaz de aumentar a porcentagem de meta-hemoglobina no sangue (entre 6% e 8%), mantendo assim uma concentração ideal para que haja o transporte de oxigênio.

Nascimento et al. (2008) apresentou dados que mostram que apesar de a porcentagem ideal da fração da meta-hemoglobina em relação a hemoglobina total no sangue (análise semelhante a este estudo) ser de até 3%, porcentagens de até 15%

difícilmente apresentam qualquer sintoma de diminuição do transporte de oxigênio, corroborando com nossos dados.

A análise da meta-hemoglobina ainda é pouco explorada pela literatura na associação com a suplementação de nitrato. Entretanto podemos verificar que ela pode ser de grande valia para entendermos alguns resultados que a literatura apresenta sobre a suplementação.

Já é altamente difundido na literatura que atletas de elite ou indivíduos altamente treinados não apresentam melhoras na performance com a suplementação de nitrato (PORCELLI, et al., 2015; SHANNON, et al., 2017). Isso pode ser explicado pelo estudo de Cooper et al. (2002) que mostra que exercícios de alta intensidade aumentam 20% a porcentagem da concentração de meta-hemoglobina até 24 horas após o teste. Pensando que atletas ou indivíduos altamente treinados se exercitam em alta intensidade frequentemente, este dado pode ser uma explicação para a ausência do efeito ergogênico neste grupo.

Outra questão é com relação ao tempo de suplementação de nitrato. Diversos estudos mostram que a partir de 15 dias de suplementação, o nitrato tem uma estabilização dos seus efeitos ergogênicos (VANHATALO, et al., 2010; SANTANA, et al., 2019). Isso pode ser explicado pelo efeito que o consumo do nitrato tem para o aumento da porcentagem de meta-hemoglobina no sangue, o que pode impedir o transporte de oxigênio pela hemoglobina, um dos papéis fundamentais do nitrato para ser usado como recurso ergogênico (ASHWORTH e BESCOS, 2017).

Com relação aos resultados dos efeitos da suplementação de nitrato na corrida de rua, e em especial na distância de 10km, são apresentados resultados conflitantes. Entretanto, nas revisões de literatura realizadas para concretizar esta tese, nenhum artigo foi encontrado quando a suplementação administrada para este público foi com uma dosagem de 12,5mmol de nitrato, de forma aguda.

O presente estudo apresentou uma diferença média de 120 segundos para a realização do teste de 10km entre o grupo CON e o NIT, sendo que o grupo NIT obteve uma performance melhor. Apesar de ser um resultado expressivo quando transferido para a modalidade, esta diminuição não foi estatisticamente significativa. Este resultado foi semelhante ao estudo de Castro et al. (2019) que verificou que a ingestão de aguda de 8,4

mmol de nitrato não foram suficientes para melhorar a performance de atletas recreacionais de corrida de rua na distância de 10km.

Um estudo realizado por nosso grupo demonstrou que uma dosagem maior da suplementação de nitrato (12mmol de nitrato), entretanto com uma semana de suplementação, apresentava uma diminuição do tempo total de um teste de 10km, justificando assim a utilização desta dose de forma aguda (SANTANA, et al., 2019). Estes resultados apresentados demonstram que a ingestão aguda de nitrato, mesmo em grandes quantidades, pode melhorar a eficiência mitocondrial e gerar possíveis mudanças na predominância da fibra utilizada no exercício, sendo a fibra tipo II mais presente no exercício, ocasionando uma economia de corrida e consequentemente melhorando a performance do atleta recreacional em uma corrida de 10km, entretanto sem ganho estatisticamente significativo (ROTHSCHILD e BISHOP, 2019).

Em relação a concentração sanguínea de lactato nos corredores, podemos observar que ambos os grupos apresentaram um aumento significativo dos resultados PÓS quando comparado ao momento PRÉ, entretanto não apresentaram diferenças significativas entre ambos.

Este aumento na concentração sanguínea de lactato logo após os testes é facilmente explicado, pois com o aumento na intensidade do exercício, a concentração de lactato, produzida durante o metabolismo bioenergético também aumenta, sendo utilizada assim como um marcador de intensidade, o que comprova que ambos os grupos empregaram uma grande intensidade durante o teste (ROSBERGS, et al., 2004).

Neste estudo, a concentração sanguínea de lactato dos corredores após os testes de 10km foi usada no intuito de verificar a intensidade que os indivíduos realizavam a corrida, pois a literatura nos traz um embasamento com relação a pouca influência da suplementação de nitrato administrada de forma aguda na inibição do aumento da concentração de lactato sanguíneo (WYLIE et al., 2013; GHOLAMI et al., 2019). Em um protocolo semelhante a este estudo, as concentrações sanguíneas de lactato apresentam uma inibição do seu aumento após 14 dias de suplementação crônica, período onde há um aumento na eficiência mitocondrial, mudando o suprimento de energia, proveniente de uma via anaeróbica para uma aeróbica (WYLIE et al., 2016; SANTANA et al., 2019).

A concentração sanguínea de CK é um importante marcador de dano muscular e pode indicar quando o praticante da atividade física realizou a atividade com uma carga incomum ao habitual. Apesar da habituação dos participantes quanto a distância, o ambiente que implicava na realização do melhor tempo possível, demandou que os corredores aumentassem a intensidade, aumentando assim a carga de trabalho, explicando o fato dos dois grupos aumentarem a média da concentração de CK.

Este aumento é relatado por Dantas et al. (2019), que mostra que uma corrida de 10km é suficiente para aumentar significativamente a concentração sanguínea de CK. Entretanto, como observamos na tabela 9, apenas o grupo CON apresentou um aumento significativo ($p = 0.016$), equivalente a 45% em média, na concentração de CK, no momento PÓS, quando comparado ao momento PRÉ, com os participantes que ingeriram a suplementação de nitrato apresentando uma estabilização, com um aumento em torno de 14% ($p = 0.540$) nesta mesma comparação.

Quando a comparação é realizada intergrupos, também notamos que a suplementação aguda de nitrato é efetiva no controle do aumento da concentração sanguínea de CK, quando comparado ao grupo controle ($p = 0.036$).

Assim como o CK, o LDH também é considerado um marcador de dano muscular, pois é uma enzima que está envolvida diretamente na produção de energia através da via glicolítica (precisamente, conversão de piruvato a lactato), sendo assim muito presente em exercícios com alta potência (BRANCACCIO et al., 2008).

No presente estudo, as concentrações sanguíneas de LDH aumentaram em ambos os grupos, entretanto apenas o grupo CON apresentou um aumento estatisticamente significativo ($p = 0,003$) no momento PÓS, quando comparado ao momento PRÉ.

Apesar da suplementação com nitrato ser amplamente estudada pela comunidade científica, ainda há uma série de lacunas com relação a sua influência nas concentrações sanguíneas de CK e LDH. Na revisão bibliográfica realizada para este estudo, foram encontrados poucos artigos que tratavam diretamente a relação da influência da suplementação de nitrato nas concentrações de CK e LDH após alguma atividade física.

Clifford et al (2017) sugeriu a ingestão de 630mg de nitrato (aproximadamente 10,5mmol), divididos em três dosagens ao longo do dia, após um exercício que induzia a um maior dano muscular e, conseqüentemente, aumento na concentração de CK, com o

intuito de potencializar a recuperação muscular e diminuição de dor. Entretanto, não encontrou diferenças significativas entre o grupo suplementado com nitrato e o grupo controle, provavelmente devido ao protocolo de ingestão utilizado, além da dosagem ser menor que o presente estudo.

Outro estudo com atletas de futebol foi realizado no intuito de verificar os efeitos da suplementação crônica de nitrato no perfil muscular após uma partida. Com uma dosagem de 8mmol por dia, divididas em duas doses, a suplementação também não apresentou diferenças significativas na concentração de CK e LDH, quando comparado ao grupo controle (DAAB et al., 2020). Isso pode ser atribuído ao fato do nitrato não apresentar benefícios ergogênicos a atletas e atletas de elite (PORCELLI et al., 2015).

Como mencionado anteriormente, a suplementação de nitrato, apesar de não ter demonstrado melhora significativa quanto a análise estatística, apresentou uma diminuição no tempo de aproximadamente dois minutos do grupo NIT em comparação ao grupo CON. A possível eficiência mitocondrial e/ou as mudanças no tipo de fibra muscular que responde à este dado, pode ser uma importante justificativa para o grupo NIT ter apresentado uma estabilização da concentração sanguínea de CK e LDH, pois estes fatores são essenciais para a diminuição do esforço do trabalho muscular, diminuindo assim os danos musculares.

Outro potencial efeito ergogênico que um vasodilatador como o nitrato pode apresentar, além da sua relação ao desempenho muscular, é sobre sua importância no aumento da oxigenação cerebral, diminuindo as chances de ocorrer uma falha na sinalização central da fadiga oriunda de exercícios com uma alta demanda de VO_2 , como a corrida de rua (PARIS et al., 2018; BOCCIA et al., 2018).

Assim como as análises de CK e LDH, as falhas nas sinalizações centrais foram até o momento pouco explorados pelos pesquisadores quando associados a ingestão da suplementação de nitrato.

Um estudo de Roux-Mallouf et al. (2019) avaliou os efeitos da suplementação de nitrato na falha da sinalização central de fadiga, com uma dosagem de 520mg, em um exercício de intensidade máxima de extensão de joelho sem, no entanto, apresentar nenhuma melhora em relação a falha dos participantes durante o estudo. Esse resultado

pode se justificar pela escolha do exercício escolhido para o teste da suplementação de nitrato, que não apresenta uma alta demanda de VO_2 .

O presente estudo demonstrou que a suplementação aguda de nitrato foi capaz de inibir a falha da sinalização central dos corredores após o teste de 10km. Para analisar as funções cognitivas, foram realizados o teste Stroop Color e o teste B de trilhas.

Com relação ao teste de Stroop Color, tem o intuito de verificar os diferentes aspectos do funcionamento executivo, como memória de trabalho, flexibilidade mental e controle inibitório. Estas funções cognitivas em declínio, podem interferir em vários aspectos para que o corredor atinja um alto nível de performance (SCARPINA e TAGINI, 2017).

No teste, o grupo NIT apresentou um resultado significativamente menor no tempo de execução dos três testes propostos (os dois primeiros são tarefas automatizadas e a terceira uma tarefa menos automatizada), quando comparado o momento PÓS com o momento PRÉ do mesmo grupo. O grupo CON apresentou uma diminuição significativamente estatística somente no terceiro teste, demonstrando assim o potencial da suplementação de nitrato na cognição dos corredores, indicando uma inibição de possíveis falhas de sinalizações centrais.

Com estes resultados indicando que o grupo NIT apresentou melhoras nos dois primeiros testes, verificamos uma melhora na função cognitiva relacionada a realizar tarefas automatizadas. Entretanto, essa melhora de ambos os grupos no terceiro teste, mostra uma melhora na função cognitiva com relação a inibição um processo mais automatizado, estimulando a flexibilidade mental (SCARPINA e TAGINI, 2017).

O outro teste aplicado foi o teste de Trilhas B, teste que atua no córtex frontal medial inferior direito. O indivíduo que apresenta algum problema nesta região, normalmente é apático e lento no processo de respostas. Além disso, também apresenta problemas nas funções cognitivas (TOMBAUGH, 2004; REGLÁ et al., 2015).

No teste de Trilhas, ambos os grupos apresentaram uma diminuição estatisticamente significativa no tempo de execução do teste, quando comparado o momento PÓS com o momento PRÉ.

Os resultados dos dois primeiros testes de Stroop Color (testes com tarefas automatizadas) são corroborados com um estudo de Presley, et al., (2011), que mostrou que a suplementação de nitrato apresenta um aumento na perfusão cerebral do córtex pré-frontal, área responsável pelos funcionamentos executivos, produto de análise deste teste. Apesar do exercício aeróbio também aumentar a perfusão cerebral, o nitrato parece apresentar resultados mais robustos.

Outro estudo que corrobora com nossos achados é uma revisão de literatura de Trinity, Broxterman e Richardson (2016), onde é relatado que um aumento no fluxo de radicais livres, como a suplementação de nitrato, contribui para uma regulação do fluxo sanguíneo cerebral, aumentando a função cognitiva e diminuindo as falhas das sinalizações centrais, assim como mostrado por este estudo.

Com relação a melhora significativa de ambos os grupos no teste de Trilhas, uma revisão sistematizada de Clifford et al. (2019) relata que os efeitos que a suplementação de nitrato tem com relação as melhoras da função cognitiva, através de um aumento do fluxo sanguíneo cerebral ainda são confusos, com algumas funções apresentando melhoras e outras não. Apesar de também analisar as questões do funcionamento cognitivo como o Stroop Color, seu principal objetivo é captar resultados referentes a questões como apatia, desatenção e lentidão para respostas. E nessa questão, o aumento do fluxo sanguíneo cerebral que o exercício aeróbio produz parece ser tão eficaz quanto a suplementação de nitrato, o que pode explicar estes resultados.

Nesta tese podemos verificar que a suplementação de nitrato apresenta resultados interessantes, como uma melhora na performance do corredor, que apesar de não ter demonstrado um resultado estatístico significativo, se transportado para uma corrida de rua oficial, dois minutos podem ser cruciais na definição de uma prova. Além disso, o seu efeito em diminuir as falhas nas sinalizações centrais e periféricas de fadiga pode ser uma importante estratégia para uma recuperação muscular mais rápida destes corredores.

Por ser uma suplementação de fácil acesso, devido à sua grande disponibilidade de fontes naturais, deve ser ainda mais explorada do que foi nesta tese em relação a sua associação ao exercício físico, pois estes resultados apresentados deixam claro que a suplementação de nitrato pode trazer ainda mais benefícios.

7. Conclusão

O presente estudo demonstrou que uma suplementação aguda de aproximadamente 12,5mmol de nitrato foi eficaz para aumentar a concentração de nitrito plasmático, sem aumentar as concentrações de meta-hemoglobina no sangue.

Este estudo também mostrou que a suplementação aguda de nitrato é capaz de inibir o aumento dos marcadores de dano muscular após uma corrida de 10km.

Além disso, também podemos concluir que a suplementação nesta dosagem é efetiva na melhora na execução de testes cognitivos, mostrando assim uma melhora na sinalização central dos corredores durante uma corrida de 10km.

Com as informações contidas neste estudo, sugerimos que a suplementação aguda de nitrato melhora os marcadores de sinalização central e periférica de corredores de rua de 10km, sendo assim um grande aliado para um menor estresse mental durante uma prova e uma recuperação mais acelerada após uma prova.

8. Referências bibliográficas

AGAWA H, et al. Changes of mental stress biomarkers in ultramarathon. **The International Journal of Sports Medicine**, vol.29, n.4, p. 867-871, 2008.

ANTUNES, et al. Reviewing on physical exercise and the cognate function. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v.12, n.2, p. 97-103, 2006.

ASHWORTH, A; BESCOS, R. Dietary nitrate and blood pressure: evolution of a new nutrient? **Nutrition Research Reviews**. v.30, n.2, p. 208-219, 2017.

BAILEY, S.J. et al. Dietary nitrate supplementation reduces the o₂ cost of low-intensity exercises and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. **Journal of applied physiology**. v.107, n.4, p.1144-1155, 2009.

BAILEY S.J. et al. Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, v.109, n.1, p.135-148, 2010.

BANGSBO, J. et al. Anaerobic energy production and O₂ deficit-debt relationship during exhaustive exercise in humans. **The Journal of Physiology**, v.422, n.1, p. 539-559, 1990.

BANGSBO, J; JUEL, C. Counterpoint: lactic acid accumulation is a disadvantage during muscle activity **Journal of applied physiology**, v.100, n.4, p.1412-1413, 2006.

BERTUZZI, R. et al. Pacing strategy determinants during a 10-km running time trial: contributions of perceived effort, physiological, and muscular parameters. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v.28, n.6, p.1688-1696, 2014.

BESCOS, R. et al. Acute administration of inorganic nitrate reduces VO_{2peak} in endurance athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v.43, n.10, p.1979–1986, 2011.

BESCOS, R. et al. Sodium nitrate supplementation does not enhance performance of endurance athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v.44, n.12, p.2400–2409. 2012.

BOCCIA, G. et al. Women show similar central and peripheral fatigue to men after half-marathon. **European Journal of Sports Science**. v.18, n.5, p. 695-704, 2018.

BOND, H. et al. Dietary nitrate supplementation improves rowing performance in welltrained rowers. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v.22, n.4, p.251-256, 2012.

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

BORG, G. Borg's Perceived Exertion and Pain Scales. *Human Kinetics*. 1998

BRANCACCIO, P; MAFFULLI, N; LIMONGELLI F.M. Creatine kinase monitoring in sports medicine. **British Medical Bulletin**, v.81, n.82, p.209-230. 2007.

BRYAN, N.S. et al. Dietary nitrite restore NO homeostasis and is cardioprotective in NOS deficient mice. **Free Radical Biology & Medicine**, v.45, n. 4, p. 468 – 474, 2008.

CARROL, T.J.; TAYLOR, J.L.; GANDEVIA, S.C. Recovery of central and peripheral neuromuscular fatigue of after exercise. **Journal of Applied Physiology (1985)**, v.122, n.5, p.1068-1076, 2017.

CASTRO, T.F. et al. Effect of beetroot juice supplementation on 10-km performance in recreational runners. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**.v.44, n.1, p. 90-94, 2019.

CERMAK, N.M. et al. No improvement in endurance performance after a single dose of beetroot juice. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v.22, n.6, p. 470-478, 2012.

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

CLIFFORD, T. et al. Effects of inorganic nitrate and nitrite consumption on cognitive function and cerebral blood flow: A systematic review and Meta-Analysis of randomized clinical trials. **Critical Reviews of Food Science and Nutrition**. v.59, n.15, p. 2400-2410, 2019.

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

CORDEIRO, L.M.S. et al. Physical exercise-induced fatigue: The role of serotonergic and dopaminergic system. **Brazilian Journal of medical and biological research**. v.50, n.12, p. 1-13, 2017.

CORRIGAN, J.D; HINKELDEY, N.S. , N.S. Relationships between parts A and B of the Trail Making Test. **Journal of Clinical Psychology**, v.43, n.4, p.402-409, 1987.

CUSHMAN, D.M; MARKET, M; RHO, M. Performance trends in large 10km road running races in the United States. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, vol.28, n.4, p.892-901, 2014.

DAAB, W. et al. Chronic beetroot juice supplementation accelerates recovery kinetics following simulated match play in soccer players. **Journal of The American College of Nutrition**. p.1-9, 2020.

DAMASCENO, M.V. et al. Energy system contribution in a maximal incremental test: correlations with pacing and overall performance in a 10-km running trial. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.48, n.11, p.1048-1054, 2015.

DANTAS, G, et al. Cold-water immersion does not accelerate performance recovery after 10-km street run: Randomized Controlled Clinical Trial. **Research Quarterly for Exercise and Sport**. v.91, n.2, p. 228-238, 2019.

DAVIS, J. M, ALDERSON, N. L, WELSH, R. S. Serotonin and central nervous system fatigue: nutritional considerations. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, n.2 (Suppl), p.573-578, 2000.

DE GONZALO-CALVO D, et al. Circulating inflammatory miRNA signature in response to different doses of aerobic exercise. **Journal of Applied Physiology (1985)**, vol. 119, n.2, p. 124-134, 2015.

DEMARTINO, A.W. et al. Nitrite and Nitrate chemical biology and signaling. **British Journal of Pharmacology**. v. 176, n.2, p. 228-245, 2019.

DOMINGUEZ, R. et al. Effects of beet root juice supplementation on intermittent high-intensity exercise efforts. **Journal of International Society of Sports Nutrition**. v.15, n.2, p. 1-12, 2018.

FITTS, R. H. Cellular, molecular, and metabolic basis of muscle fatigue. Handbook of physiology. Oxford, p.1150-83, 1996.

FURLONG, R.J. et al. Exercise-induced elevations in cerebral blood velocity are greater in running compared to cycling at high intensities. **Physiological Reports**. v.8, n.15, p.1-11, 2020.

GARNACHO-CASTANO, M.V. et al. Effects of a single dose of beetroot juice on cycling time-trial performance at ventilatory thresholds intensity in male triathletes. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**. v.15, n.1, p. 1-12, 2018.

GHOLAMI, F. et al. High doses of sodium nitrate prior to exhaustive exercise increases plasma peroxynitrite levels in well-trained subjects: randomized, double blind and crossover study. **Applied Physiology and Nutrition Metabolism**. v.44, n.12, p. 1305-1310, 2019.

GIBSON, H.; EDWARDS, R. H. T. Muscular exercise and fatigue. *Sports Medicine*. v. 2, p. 120-32. 1985.

GOVONI, M. et al. The increase in plasma nitrite after a dietary nitrate load is markedly attenuated by an antibacterial mouthwash. *Nitric Oxide*, v19, n.4, p.333-337, 2008.

HASEGAWA, H. et al. Foot strike patterns of runners at the 15-km point during an elite-level half marathon. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, v.21, n.3, p.888-893, 2007.

JODRA, P. et al. Effect of beetroot juice supplementation on mood, perceived exertion and performance during a 30-second Wingate Test. *International Journal of Sports Physiology and Performance*. p. 1-6, 2019.

JONES, A.M. Dietary nitrate supplementation and exercise performance. *Sports Medicine*, v.44, n.1, p. s35-s45, 2014.

JONES, A.M. et al. Fiber Type-Specific effects on dietary nitrate. *Exercise and sport sciences review*. v.44, n.2, p.53-60, 2016.

JONES, A.M. et al. Dietary nitrate and physical performance. *Annual Review of Nutrition*. v.38, p. 303-328, 2018.

JONES, A.M. et al. Dietary Nitrite and Nitric Oxide Metabolism: Mouth, Circulation, Skeletal Muscle, and Exercise Performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. v. 53, n.2, p. 280 – 294, 2021.

JONVIK, K.L. et al. Nitrate-Rich Vegetables Increase Plasma Nitrate and Nitrite Concentrations and Lower Blood Pressure in Healthy Adults. *The Journal of Nutrition*. v. 146, n.5, p. 986-993, 2016.

KENJALE, A.A. et al. Dietary nitrate supplementation enhances exercise performance in peripheral arterial disease. *Journal of Applied Physiology*, v.110, n.6, p. 1582-1591, 2011.

KENT, G.L. et al. The effect of beetroot juice supplementation on repeat-*sprint* performance in hypoxia. *Journal of Sports Science*. v. 37, n.3, p.339-346, 2019.

KIRKENDALL, D.T. Fatigue from voluntary motor activity. In: *Exercise and sport science*. Lippincott Williams & Wilkins, p.97-104, 2000.

KNECHTLE, B. et al. Anthropometric and training variables related to half-marathon running performance in recreational female runners. **The Physician and Sportsmedicine**, v.39, n.2, p.158-166, 2011.

KOBAYASHI, T. et al. Effect of a marathon run on serum lipoproteins, creatine kinase, and lactate dehydrogenase in recreational runners. **Research Quarterly for Exercise and Sport**, v.76, n.4, p.450-455, 2005.

KOHN, T.A; GUSTAVSSON, B. E; MYBURGH, K.H. Do skeletal muscle phenotypic characteristics of Xhosa and Caucasian endurance runners differ when matched for training and races distances. **Journal of Applied Physiology**, v.103, n.3, p. 932-940, 2007.

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

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

LARSEN, F.J. et al. Dietary inorganic nitrate improves mitochondrial efficiency in humans. **Cell metabolism**, v.13, n.2, p.149-159, 2011.

LARSEN, F.J. Dietary nitrate reduces resting metabolic rate: a randomized, crossover study in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.99, p.843-850, 2014.

LEE, S. et al. Acute beetroot juice supplementation does not attenuate knee extensor exercise muscle fatigue in a health young population. **Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry**. v.23, n.1, p. 55-62, 2019.

LIMA-SILVA, A.E. et al. Effect of performance level on pacing strategy during a 10-km running race. **European Journal of Applied Physiology**. v.108, n.5, p.1045-1053, 2010.

LIPPI, G. et al. Acute variation of biochemical markers of muscle damage following a 21-km, half-marathon run. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**. v.68, n.7, p. 667-672, 2008.

LIPPI, G. et al. Significant variation of traditional markers of liver injury after a half-marathon run. **European Journal of International Medicine**, v.22, n.5, p.36-38, 2011.

LUNDBERG, J.O; GOVONI, M. Inorganic nitrate is a possible source for systemic generation of nitric oxide. **Free Radical Biology & Medicine**, v.37, n.3, p.395-400, 2004.

LUNDBERG, J.O. et al. The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. **Nature Reviews Drug Discovery**. v.7, p. 156-167, 2008.

MAUGHAN, R.J. et al. IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athletes. **British Journal of Sports Medicine**. v.52, n.7, p. 439-455, 2018.

MOLLER, J.K.S; SKIBSTED, L.H. Nitric Oxide and Myoglobins. **Chemical Reviews**. v.102, p. 1167 – 1178, 2002.

MORGAN, R.M. et al. Effects of elevated plasma tryptophan on brain activation associated with the Stroop task. **Psychopharmacology**, v.190, n.3, p.383-389, 2006.

MORREL, C.N. et al. Regulation of platelet granule exocytosis by S-nitrosylation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.102, n.10, p.3782-3787, 2005.

MUGGERIDGE, D.J. et al. A single dose of beetroot juice enhances cycling performance in simulated altitude. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. v.46, n.1, p.143-50, 2014.

MUNZEL, T. DAIBER, A. Inorganic nitrite and nitrate in cardiovascular therapy: a better alternative to organic nitrates as nitric oxide donors. **Vascular Pharmacology**. v.102, p. 1-10, 2018.

MURPHY, M. et al. Whole beetroot consumption acutely improves running performance. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n.4, p.548–552, 2012.

NASCIMENTO, T. S. et al. Metemoglobinemia: do Diagnóstico ao Tratamento. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v.58, n.6, p. 651, 664, 2008.

NEWSHOLME, E.A; ACTWORTH, E. Amino-Acids, brain neurotransmitters and a functional link between muscle and brain that is important and sustained exercise. **ed. Advances in myochemistry**. p. 127-133, 1987.

NIEMELÄ M, KANGASTUPA P, NIEMELÄ O, BLOIGU R, JUVONEN T. Acute Changes in Inflammatory Biomarker Levels in Recreational Runners Participating in a Marathon or Half-Marathon. **Sports Medicine Open**, v.2, n.21, p.1-8, 2016.

OLIVEIRA, G.V. et al. Beetroot-based gel supplementation improves handgrip strength forearm muscle O₂ saturation but not exercise tolerance and blood volume in Jiu-Jitsu athletes. **Applied of Physiology, Nutrition and Metabolism**. v.43, n.9, p. 920-927, 2018.

PARIS, H.L. et al. Effect of carbohydrate ingestion on central fatigue during prolonged running exercise in moderate hypoxia. **Journal of Applied Physiology**. v.126, n.1, p. 141-151, 2018.

PAZIN, J. et al. Corredores de rua: características demográficas, treinamento e prevalência de lesões. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**. v.10, n.3, p. 277-282, 2008.

PINNA, M. et al. Effect of Beetroot Juice Supplementation on Aerobic Response during Swimming. **Nutrients**, v.6, p. 605-615, 2014.

PONTIFEX, M.B. et al. Cerebral blood flow not modulated following acute aerobic exercise in preadolescent children. **International Journal of Psychophysiology**. v.134, p.44-51, 2018.

PORCELLI, S. et al. Aerobic fitness affects the exercise performance responses to nitrate supplementation. **Medicine and Science in Sports and Medicine**. v.47, n.8, p. 1643-1651, 2015.

PRESLEY, T.D, et al. Acute effect of high nitrate diet on brain perfusion in older adults. **Nitric Oxide**. v.24, n.1, p. 34-42, 2011.

QUITTMANN, O.J. Evaluation of a sport-specific field test to determine maximal lactate accumulation rate and *sprint* performance parameters in running. **Journal of Science and Medicine in Sports**. v.23, n.1, p, 27-34, 2020.

REGLA, J.L. et al. The Trail Making Test: Association With Other Neuropsychological Measures and Normative Values for Adults Aged 55 Years and Older From a Spanish-Speaking Population-Based Sample. **Sage Journals**. v.24, n.2, p.183-196, 2015.

ROSBERGS, R.A. et al. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v.287, n.3, p. 502-516, 2004.

ROSSI, L; TIRAPEGUI, J. Implicações do Sistema serotoninérgico no exercício físico. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo*. v. 48, n.2, p. 227-233, 2004.

ROTHSCHILD, J.A; BISHOP, D. Effects of dietary supplements on adaptations on endurance training. **Sports Medicine**. v.50, n.1, p. 25-53, 2019.

ROUX-MALLOUF, T.L. et al. Effects of acute oxide nitric precursor intake on peripheral and central fatigue during knee extensions healthy man. **Experimental Physiology**. v.104, n.7, p. 1100-1114, 2019.

RUNNING USA. <https://www.runningusa.org/>, 2017.

RUST, C.A. et al. Predictor variables for a half marathon race time in recreational male runners. **Open Access Journal of Sports Medicine**, v.2, n.2, p. 113-119, 2011.

RYU, J.H. et al. Impact of different running distances of muscle and lymphocyte DNA damage in amateur marathon runners. **The Journal of Physical Therapy Science**. v.28, p. 450-455, 2016.

SALGADO, J. V.V.; CHACON-MIKAHIL, M. P. T. Corrida de Rua: Análise do Crescimento do número de provas e de praticantes. **Revista da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas**, v.4, n.1, 2006.

SALGADO, J.V.V. et al. Dietary supplement usage and motivation in Brazilian road runners. **Journal of International society of sports nutrition**, v.11, n.41, p.1-5, 2014.

SANTANA, J.O. et al. Nitrate supplementation combined with a running training program improved time-trial performance in recreationally trained runners. **Sports (Basel)**. v.7, n.5, p.1-10, 2019.

SANTOS, V.C. et al. Marathon race affects neutrophil surface molecules: Role of inflammatory mediators. **PLoS One**, v.2, n.11, n.12, p. 1-14, 2016.

SCARPINA, F; TAGINI, S. The Stroop Color and Word Test. **Frontiers in Psychology**. v.8, p. 1-8, 2017.

SCAVO, D. et al. Adrenocorticotrophic hormone, beta-endorphin, cortisol, growth hormone and prolactin circulating levels in nineteen athletes before and after half-marathon and marathon. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v.31, n.3, p.401-406, 1991.

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

SMITH, J.E, et al. Effects of prolonged strenuous exercise (marathon running) on biochemical and haematological markers used in the investigation of patients in the emergency department. **British Journal of Sports Medicine**, v.38, n.3, p.292-294, 2004.

STAMLER, J.S.; MEISSNER, G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. **Physiological Reviews**, v.81, n.1, p.209-237, 2001.

STANAWAY, L. et al. Acute supplementation with nitrate-rich beetroot juice causes a greater increase in plasma nitrite and reduction in blood pressure of older compared to young adults. **Nutrients**. v.11, n.7, p. 1-13, 2019.

TAMME, T. et al. Nitrates and nitrites vegetables and vegetables-based products and their intakes by ESTONIAM population. **Food Additives and Contaminants**. v.23, n.4, p.355-361, 2004.

THOMPSON, K, G. et al. Influence of dietary nitrate supplementation on physiological and cognitive responses to incremental cycle exercise. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 193, p.11-20, 2014.

TOMBAUGH, T.N. Trail Making Test A and B: normative data stratified by age and education. **Archives Clinical of Neuropsychological**. v.19, n.2, p.203-214, 2004.

TRENERRY, M. et al Stroop Neuropsychological Screening Test manual. Odessa, FL: Psychological Assessment Resources (PAR), 1989.

TREXLER, E.T. et al. Effects of Citrulline Malate and beet root juice supplementation on energy metabolism and blood flow during submaximal resistance exercise. **Journal of Dietary Supplements**. p. 1-20, 2019

TRINITY, J.D; BROXTERMAN, R.M; RICHARDSON, R.S. Regulation of exercise blood flow: role of free radicals. **Free Radical Biology and Medicine**. v.98, p.90-102, 2016.

TUCKER, R.; LAMBERT, M.I.; NOAKES, T.D. An analysis of pacing strategies during men's world-record performances in track athletics. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v.1, n.3, p.233-245, 2006.

WILLIAMS, T.D. et al. Effect of acute beetroot juice supplementation on bench press power, velocity and repetition volume. **Journal of Strength and Condition**. v.34, n.4, p. 924-928, 2020.

WYLIE, L.J. et al. Beetroot juice and exercise: Pharmacodynamic and dose-response relationships. *Journal of Applied Physiology*, v. 115, n.3, p.325–336, 2013a.

WYLIE, L.J. et al. Dietary nitrate supplementation improves team sport-specific intense intermittent exercise performance. **European Journal of Applied Physiology**. v.113, n.7, p.1673–1684, 2013b.

WYLIE, L.J. et al. Influence of beetroot juice supplementation on intermittent exercise performance. **European Journal of Applied Physiology**. v.116, n.2, p. 415-425, 2016.

WYLIE, L.J. et al. Human skeletal muscle nitrate store: influence of dietary nitrate supplementation and exercise. **The Journal of Physiology**. v. 597, n.23, p. 5565-5576, 2019.

VANHATALO, A. et al. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. **American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology**. v. 299, n.4, p. 1121-1131, 2010.

VANHATALO, A. et al. Dietary nitrate reduces muscle metabolic perturbation and improves exercise tolerance in hypoxia. **The Journal of Physiology**, v.589, p.5517-5528, 2011.

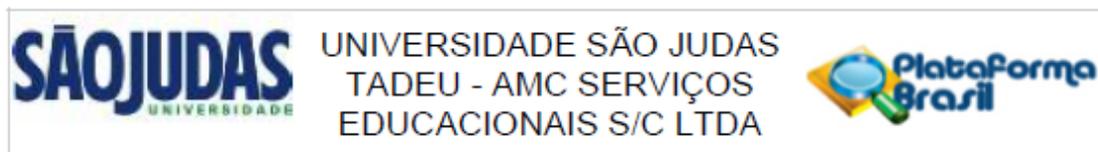
VIVAR, C; PRAAG, H.V. Running changes the brain: The long and the short of it. **Physiology (Bethesda)**. v.32, n.6, p. 410-424, 2017.

YAMATO, T.P. et al. Descriptors used to define running-related musculoskeletal injury: a systematic review. **Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy**, v.45, n.5, p.366-374, 2015.

ZILLMAN, T. et al. Comparison of training and anthropometric characteristics between recreational male half-marathoners and marathoners. **The Chinese Journal of Physiology**, v.56, n.3, p.138-146, 2013.

ZIMMERMAN, B. et al. Cardiorespiratory fitness mediates the effects of aging on cerebral blood flow. **Frontiers in aging neuroscience**. v.6, n.59, p.1-13, 2014.

ANEXO 1



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise da fadiga central e fadiga periférica e os efeitos da suplementação de nitrato inorgânico em corredores de rua.

Pesquisador: Jeferson Oliveira Santana

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 92012518.5.0000.0089

Instituição Proponente: AMC Serviços Educacionais S/C Ltda

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.823.176

Apresentação do Projeto:

60 participantes com idade entre 20 e 40 anos (divididos em tres distancias diferentes, 10km, 21km e 42km)

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primario:

Avaliar a influencia da fadiga central e fadiga periferica em corredores de 10km, 21km e 42km e verificar os efeitos da suplementacao de nitrato inorganico na fadiga central e fadiga periferica destas distancias.

Objetivo Secundario:

Avaliar o dano muscular, perfil serico de catecolaminas e indolaminas e niveis de nitrato dos corredores atraves de analise sanguinea; avaliar o nivel de estresse dos corredores atraves de testes

Endereço: Rua Taquari, 546

Bairro: Mooca

CEP: 03.166-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2799-1944

Fax: (11)2894-2512

E-mail: cep@usjt.br



UNIVERSIDADE SÃO JUDAS
TADEU - AMC SERVIÇOS
EDUCACIONAIS S/C LTDA



Continuação do Parecer: 2.823.176

cognitivos (Teste

neuropsicológico de Stroop e Teste de Trilhas); comparar o tempo de provas dos corredores antes e após o teste para verificar a influência da suplementação de nitrato na performance; avaliar possíveis alterações na composição corporal dos corredores após a corrida; avaliar a percepção subjetiva de esforço e percepção de dor.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios estão adequadamente descritos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está adequada do ponto de vista ético.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória estão adequados. O TCLE foi ajustado conforme solicitado no parecer anterior.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

PARECER APROVADO

O CEP/USJT deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente ao evento adverso grave ocorrido e enviar notificações ao CEP.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

O relatório parcial deve ser apresentado ao CEP, via Plataforma Brasil - opção Notificação, após a coleta de dados do estudo.

O relatório final deve ser apresentado ao CEP, via Plataforma Brasil - opção Notificação, após 90 dias do término do estudo.

Endereço: Rua Taquari, 546

Bairro: Mooca

CEP: 03.166-000

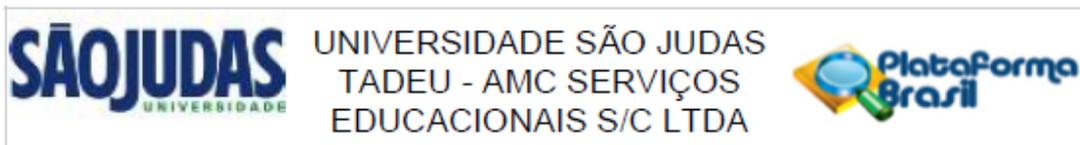
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2799-1944

Fax: (11)2894-2512

E-mail: cep@usjt.br



Continuação do Parecer: 2.823.176

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1137842.pdf	29/06/2018 16:25:13		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEFADIGAECORREDORESCORRIGIDO.pdf	28/06/2018 16:07:10	Jeferson Oliveira Santana	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TEXTOCOMPLETO.pdf	21/06/2018 17:16:13	Jeferson Oliveira Santana	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoPlataforma.pdf	21/06/2018 17:10:42	Jeferson Oliveira Santana	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 15 de Agosto de 2018

Assinado por:
JULIANA VALENTE FRANCICA
(Coordenador)

Endereço: Rua Taquari, 546
Bairro: Mooca CEP: 03.166-000
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2799-1944 Fax: (11)2694-2512 E-mail: cep@usjt.br

ANEXO 2**Coleta Nitrato/Corrida de 10km****Data: 30/10/2018 e 15/11/2018****Local: USP (Portaria 1)****Hora: 07:00**

Vocês serão submetidos a três coletas, antes e após a corrida. Serão elas: coleta sanguínea, teste cognitivo e avaliação da composição corporal.

Para a coleta pré corrida, você deve:

- Comparecer ao Laboratório do Movimento Humano na Universidade São Judas Tadeu (Rua Taquari, 546, Mooca, SP), na semana anterior à corrida (27/10 a 29/10 e 11/11 a 13/11).

Com relação a suplementação, os participantes que correrão a distância de 10km deverão tomar o suplemento 2 horas antes da corrida e os que correrão a distância de 21.097km deverão tomar o suplemento 1 hora antes da corrida. Sendo assim, os participantes que não conseguirem comparecer ao Laboratório do Movimento Humano na semana anterior ao teste, deverão combinar junto aos pesquisadores um local para receber estes suplementos um dia antes da corrida.

A corrida será realizada na raia da USP, somente na parte plana (duas voltas de 5km para a distância de 10km e quatro voltas de 5.275km para a distância de 21.097km) e o ponto de encontro será no bolsão de estacionamento da Portaria 1. Antes e após a corrida disponibilizaremos um café da manhã para todos os participantes e as instruções do percurso serão dadas minutos antes da corrida. Para os corredores de 10km teremos água ao completar a primeira volta e ao término da corrida e para os corredores de 21.097km teremos água após cada volta e gel de carboidrato na segunda volta.

Todos os participantes receberão um kit de participação. Aqueles que realizarem as duas corridas (30/11 e 14/12) receberão um kit completo e aqueles que realizarem apenas uma das corridas receberão um kit com uma quantidade menor de cortesias.

Alguns alimentos, suplementos e hábitos não poderão ser consumidos e/ou realizados antes das análises e no dia da corrida. Segue a lista abaixo:

1. Alimentos que não poderão ser consumidos 24h antes da análise pré corrida e 24h antes do dia da corrida:

- Beterraba
- Alface
- Espinafre
- Produtos embutidos
- Carnes embaladas
- Cafeína
- Suplementos com estimulantes
- Proteínas em excesso (quantidades superiores a 1,8g/Kg)

2. Enxaguante bucal: não poderá ser utilizado a partir de uma semana antes dos testes.

3. Treinos de corrida ou musculação (não poderão ser realizados 24h antes da análise pré corrida e 24h antes do dia da corrida em alta intensidade)