

Efeitos da suplementação aguda de suco de beterraba nas respostas hematológicas induzidas pelo exercício

Effects of acute beetroot juice supplementation on exercise-induced hematological responses

Claudia de Mello Meirelles¹ , Gabriela da Cunha Rodrigues² , Matheus Lehmann Lourenci¹ , Marcio Antonio de Barros Sena³ , Cristiane Matsuura² 

1. Escola de Educação Física do Exército, Rio de Janeiro, Brasil

2. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

3. Instituto de Pesquisa da Capacitação Física do Exército, Rio de Janeiro, Brasil

RESUMO

Introdução: O suco de beterraba (SB), fonte de nitrato inorgânico, é reconhecido pela sua ação ergogênica, todavia, pouco se sabe sobre seus efeitos em variáveis hematológicas. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do SB nas respostas eritrocitárias, leucocitárias e plaquetárias em resposta ao exercício intenso. **Métodos:** Desenho cruzado, duplo cego e controlado por placebo, no qual 15 participantes (5 mulheres; 22 ± 2 anos; 10,3% gordura; $VO_{2max} 58,7 \pm 3,5$ mL O_2 .kg $^{-1}$.min $^{-1}$) receberam, aleatoriamente, 100 mL de SB (10 g BT400 Dobro) ou 100 mL de placebo (PLA) duas horas antes de um teste de corrida intervalada (5 x 600 m, 30 s de intervalo). O sangue venoso foi coletado antes, imediatamente após e 24h após a corrida (BC-6200, Mindray). As diferenças foram testadas pelo teste t pareado e ANOVA 2x3 com medidas repetidas, pós-teste de Tukey, $\alpha = 0,05$. **Resultados:** Não foram observados efeitos significativos no tempo total para completar o protocolo de corrida (PLA: $674,7 \pm 49,5$ s; SB: $677,8 \pm 50,2$ s). Alterações significativas nas respostas de frequência cardíaca e na série vermelha e plaquetas sanguíneas foram observadas, mas sem diferenças entre as condições. A corrida ocasionou leucocitose significativa, sem interação entre as condições e retorno aos valores basais 24h pós-exercício (PLA: pré $5,4 \pm 0,9$; pós $7,4 \pm 1,0$; 24h-pós $5,9 \pm 1,0$; SB: pré $5,8 \pm 1,1$; pós $7,3 \pm 1,5$; 24h-pós $6,4 \pm 1,3$ mil/ μ L), contudo, observou-se diferenças nas subpopulações de células brancas. **Conclusão:** A suplementação aguda com suco de beterraba não afeta o desempenho em corridas intervaladas de alta intensidade, mas parece exercer algum efeito imunomodulador nas respostas ao exercício.

Palavras-chave: nitrato; eritrócitos; plaquetas; corrida; atleta.

ABSTRACT

Introduction: Beetroot juice (BRJ), a source of inorganic nitrate, is recognized for its ergogenic action; however, little is known about its effects on hematological variables. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of BRJ on erythrocyte, leukocyte, and platelet responses to intense exercise. **Methods:** A crossover, double-blind, placebo-controlled design was used in which 15 participants (5 women; 22 ± 2 years; 10.3% body fat; $VO_{2max} 58.7 \pm 3.5$ mL O_2 .kg $^{-1}$.min $^{-1}$) were randomly assigned to receive 100 mL of BRJ (10 g BT400, Dobro) or 100 mL of placebo (PLA) two hours before an interval running test (5x600 m, 30 s interval). Venous blood was collected before, immediately after, and 24 h after the run (BC-6200, Mindray). Differences were tested using a paired t-test and a 2x3 ANOVA with repeated measures, Tukey's post-hoc test, $\alpha = 0.05$. **Results:** No significant effects were observed in the total time to complete the running protocol (PLA: 674.7 ± 49.5 s; BRJ: 677.8 ± 50.2 s). Significant changes in heart rate responses and red blood cell and platelet counts were observed, but no differences were observed between conditions. The exercise caused significant leukocytosis, with no interaction between conditions and a return to baseline values 24 h post-exercise (PLA: pre 5.4 ± 0.9 ; post 7.4 ± 1.0 ; 24h-post 5.9 ± 1.0 ; BRJ: pre 5.8 ± 1.1 ; post 7.3 ± 1.5 ; 24h-post 6.4 ± 1.3 thousands/ μ L); however, differences were observed in white blood cell subpopulations. **Conclusion:** Acute supplementation with beetroot juice does not affect performance in high-intensity interval running, but it appears to exert some immunomodulatory effect on exercise responses.

Keywords: nitrate; erythrocytes; platelets; running; athlete

Introdução

A suplementação de suco de beterraba (SB), uma das principais fontes de nitrato inorgânico (NO_3^-) tem se destacado pelo seu potencial ergogênico observado no tempo até exaustão em exercícios aeróbios, bem como na resistência e potência musculares em exercícios anaeróbios [1], sendo considerado um dos top-5 suplementos nutricionais quanto à robustez das evidências científicas de eficácia e segurança de seu uso em diversas modalidades esportivas [2].

O NO_3^- atua como precursor da via nitrato-nitrito-óxido nítrico ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$). Sua suplementação aumenta a biodisponibilidade de óxido nítrico no músculo esquelético, o que pode favorecer a vasodilatação periférica, bem como a eficiência contrátil e o pico de potência das fibras musculares. Nas mitocôndrias, ele atua estimulando a biogênese e a eficiência respiratória, desempenhando, também, um papel no estado redox muscular esquelético, por meio de sua interação com enzimas da cadeia respiratória e reguladores transcricionais da produção de antioxidantes [3]. Há também evidências de que o óxido nítrico, gerado pela via nitrato-nitrito-NO, seja um regulador importante do processo inflamatório, contribuindo para atenuar respostas típicas ao estresse causado pelo exercício físico [4].

Além de ser fonte de NO_3^- , o SB contém expressivas quantidades de fitonutrientes, entre estes, polifenóis e o pigmento betalaína, que apresentam potenciais efeitos anti-inflamatório e antioxidante. Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a betalaína é capaz de modular marcadores envolvidos no estresse oxidativo e respostas inflamatórias, por meio de menor produção de enzimas/moléculas como a ciclooxigenase-2 (COX-2), óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e citocinas inflamatórias (interleucinas 6 e 8 - IL-6 e IL-8) [5].

As modificações inflamatórias induzidas pelo exercício podem ser monitoradas indiretamente por meio da medida de leucócitos no sangue. Uma leucocitose aguda pós-exercício é comumente observada, especialmente no número de neutrófilos e eosinófilos, devido ao maior recrutamento da medula óssea, que pode ser explicado pelo aumento de quimiocinas reguladas por interleucinas inflamatórias aumentadas em decorrência do exercício [6]. Portanto, fatores como exercício e suplementos impactam a resposta inflamatória e a homeostase de células brancas sanguíneas, mas as evidências neste tema ainda são escassas.

Estudo anterior do nosso grupo suplementou 70 mL de SB concentrado (6,4 mmol de nitrato) ou placebo (70 mL de SB depletado em nitrato) a pentatletas militares antes de um teste de corrida de 4 km cross-country e não detectou modificações significativas na atividade antioxidante enzimática nem na peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas no plasma [7], contudo, não monitoramos as possíveis alterações provocadas nas concentrações de leucócitos.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi monitorar os efeitos da suplementação de suco de beterraba sobre respostas eritrocitárias, leucocitárias e na contagem de plaquetas de indivíduos jovens bem treinados submetidos à corrida intervalada de alta intensidade.

Métodos

Amostra

Participaram do estudo 15 indivíduos jovens aparentemente saudáveis e fisicamente ativos composto por 5 mulheres e 10 homens (idade: 22 ± 2 anos; massa corporal: $70,5 \pm 8,3$ kg; altura: $173,8 \pm 7,5$ cm; gordura corporal: $10,3 \pm 3,9$ %; $\text{VO}_{2\text{máx}}$ estimado pelo teste de 12 minutos: $58,7 \pm 3,5$ mL O_2 .kg $^{-1}$.min $^{-1}$ [8]). Todos os participantes eram alunos do Curso de Instrutor de Educação Física da Escola do Exército (EsE-FEx) e familiarizados com o teste de exercício realizado: corrida intervalada. Foram considerados critérios de exclusão: lesões osteomioarticulares que impedissem a realização do exercício, doenças agudas ou crônicas conhecidas, uso de medicamentos ou suplementos que possam afetar a biodisponibilidade de NO (nitratos orgânicos, estatinas, nebivolol, antagonistas do sistema renina angiotensina, arginina, citrulina, antioxidantes). O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Capacitação Física do Exército, sob o registro nº 89810825.6.0000.9433).

Desenho experimental

O estudo caracterizou-se como um ensaio clínico cruzado, randomizado, duplo cego e controlado por placebo, no qual cada participante foi submetido a duas condições experimentais, cuja ordem foi aleatória e definida por sorteio: SB e placebo. O protocolo experimental compreendeu cinco visitas ao laboratório, realizadas no Centro de Capacitação Física do Exército (CCFEx) entre 7h e 12h.

Na primeira visita, após a assinatura do TCLE, a composição corporal foi medida por bioimpedância (*InBody 270*, *InBody CO*, *LTD*, *Coreia do Sul*) e os participantes receberam orientações para as visitas subsequentes, incluindo evitar o uso de antissépticos bucais (com o objetivo de preservar o microbioma oral), bem como o consumo de alimentos ricos em nitrato (como beterraba, espinafre, aipo e rúcula). Ainda na primeira visita, foi definida a ordem da suplementação de forma aleatória (por sorteio).

Nas visitas 2 e 4, os participantes compareceram ao laboratório no período da manhã, ingeriram o suplemento ou placebo e realizaram o teste de exercício. Ainda, foram realizadas duas coletas de sangue: antes e após o exercício. As visitas 2 e 4 foram espaçadas por um intervalo de uma semana a fim de evitar possíveis efeitos residuais da suplementação.

As visitas 3 e 5 foram realizadas 24h após as visitas 2 e 4, respectivamente, e nestas foi realizada uma coleta de sangue. A Figura 1 ilustra o desenho experimental do estudo.

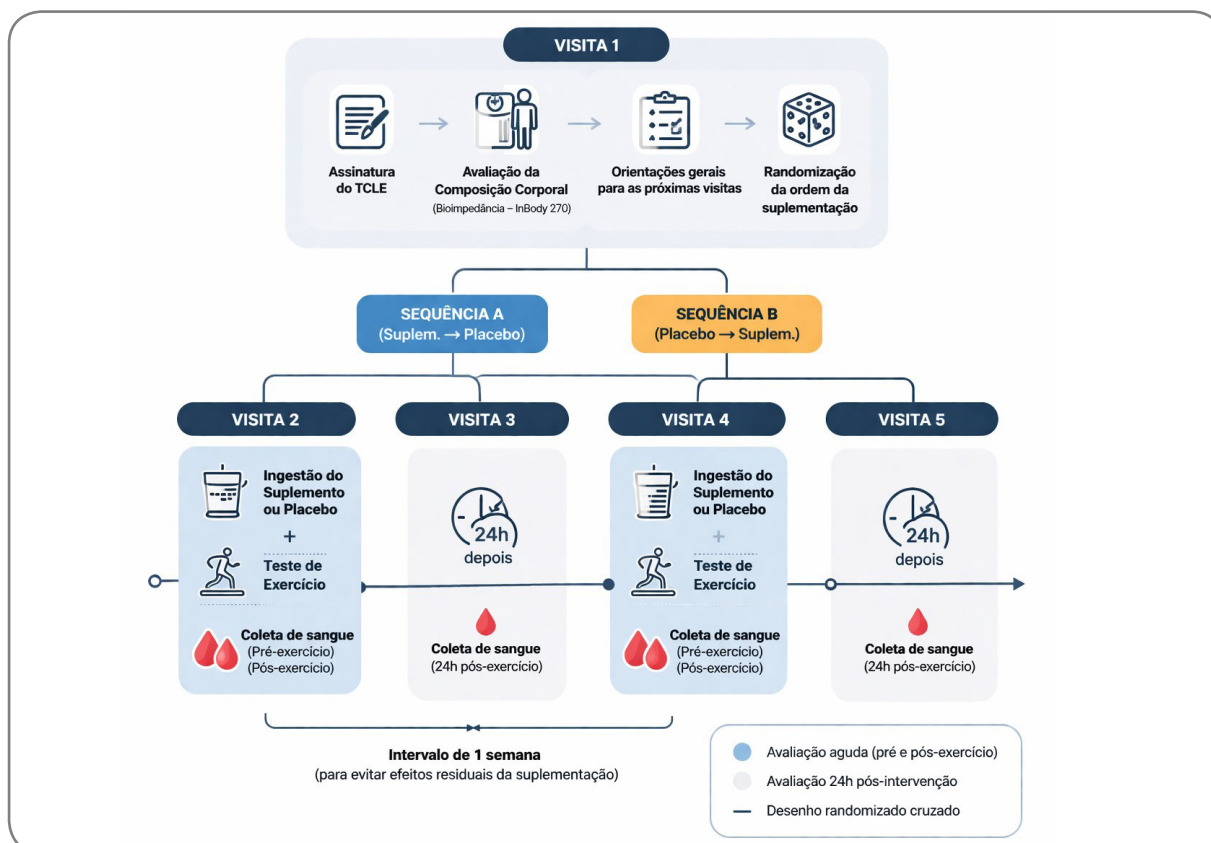


Figura 1 - Delineamento experimental do estudo (imagem gerada por IA e modificada pelos autores)

Suplementação

Nas visitas 2 e 4, os participantes receberam 100 mL de placebo ou de SB em garrafas identificadas como A ou B. Para garantir a integridade do delineamento experimental, as garrafas foram preparadas por um terceiro que não participou da coleta ou da análise dos dados. Dessa forma, tanto os participantes quanto os pesquisadores permaneceram cegos quanto ao conteúdo de cada uma das bebidas, minimizando o risco de viés. A identificação das intervenções foi apenas revelada após a conclusão da coleta e análise dos dados, quando necessária para a análise estatística.

O SB foi preparado a partir da reconstituição do suplemento BT400 NIT (Dobro, Brasil) em refresco Clight® sabor uva (10 g de BT400 NIT em 100 mL de refresco, 400 mg de nitrato e 8 g de carboidratos). Já o placebo foi composto por 100 mL de Clight® uva acrescido de 8 g de maltodextrina para garantir a mesma quantidade de carboidratos presente no suplemento BT400.

A ingestão do SB ou placebo foi realizada duas horas antes do teste de corrida intervalada, garantindo tempo suficiente para elevação dos níveis circulantes de nitrato e nitrito [9].

Protocolo de exercício

O protocolo de exercício consistiu em uma corrida intervalada (5 x 600 m com 30 s de intervalo entre cada intervalo), precedido por 10 minutos de aquecimento, realizada em pista de atletismo de 400 m. Os participantes foram orientados a realizar os quatro primeiros intervalos em ritmo constante, mantendo a frequência cardíaca entre 77 e 93% da máxima, e a realizar o último intervalo na maior intensidade possí-

vel). A frequência cardíaca foi monitorada continuamente durante a sessão de exercício por um monitor. A duração de cada intervalo foi registrada por um cronômetro digital esportivo pela equipe de pesquisa.

Coleta de sangue e análises hematológicas

A coleta de sangue foi realizada por venopunção em tubos de EDTA por um técnico especializado. As coletas foram realizadas em três momentos: imediatamente antes do exercício, imediatamente após o seu término e 24 horas após a realização do exercício. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório Central do Hospital Universitário Pedro Ernesto, e o hemograma foi realizado no analisador hematológico automatizado BC-6200 (Mindray, China).

Análise estatística

As comparações entre as condições e os momentos foram realizadas por meio da análise de variância de medidas repetidas (ANOVA 2 x 3), seguida do pós-teste de Tukey em caso de F significativo. Todas as análises foram processadas utilizando o software *Graphpad Prism*, versão 8.0, sendo considerados estatisticamente significativos os valores de $P \leq 0,05$.

Resultados

Segurança do suco de beterraba e placebo

Tanto o SB quanto o placebo se mostraram bebidas seguras. Não houve relato de efeitos adversos com a ingestão das bebidas, exceto pela urina levemente avermelhada com a ingestão do SB.

Desempenho físico

A ingestão de SB não alterou significativamente o desempenho na corrida intervalada. Para a avaliação do desempenho, foram comparados os tempos para percorrer cada intervalo, além do tempo total. Como observado na Figura 2, os participantes do estudo mantiveram um ritmo estável nos quatro primeiros intervalos e aumentaram o ritmo no último intervalo, evidenciado pelo tempo significativamente menor em comparação ao intervalo quatro, sem diferença, no entanto, entre as condições. Da mesma forma, não houve diferença significativa entre as condições placebo e SB para o somatório dos tempos (PLA, $674,7 \pm 49,5$ s; SB, $677,8 \pm 50,2$ s; $P = 0,2869$).

A frequência cardíaca foi medida continuamente ao longo do protocolo de exercício, sendo apresentada a frequência cardíaca média de cada intervalo. A ANOVA mostrou um efeito principal do intervalo ($P < 0,0001$), com a frequência cardíaca do primeiro intervalo significativamente inferior ao dos demais em ambas as condições (Figura 3). Não houve efeito significativo da suplementação com SB, nem interação entre os fatores sobre a frequência cardíaca. Entretanto, na condição SB, mas não na PLA, a frequência cardíaca do intervalo 5 diferiu da dos intervalos 2 e 3.

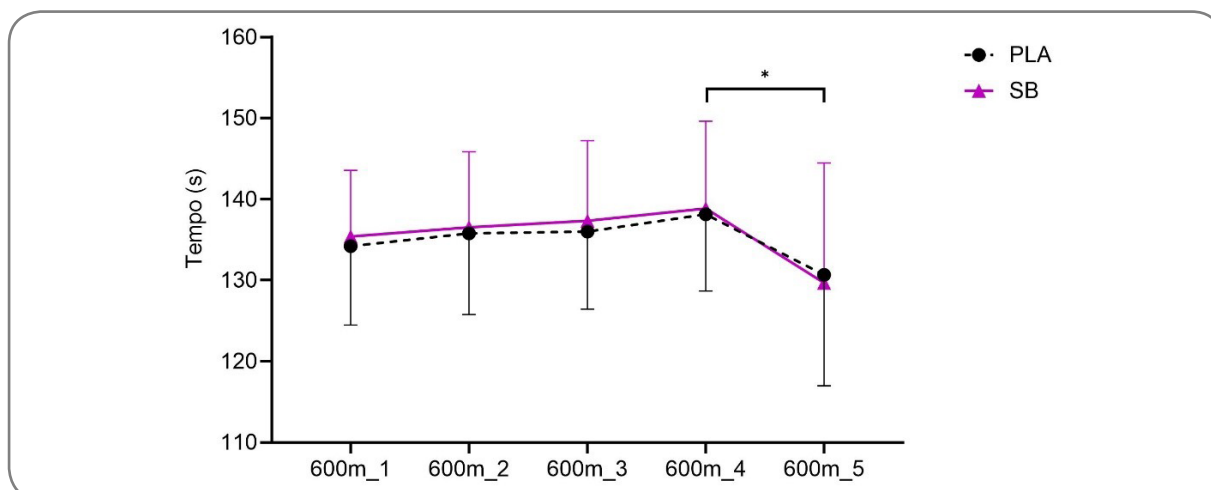


Figura 2 - Tempo para percorrer cada intervalo de 600 m. * $P \leq 0,05$. PLA, placebo; SB, suco de beterraba

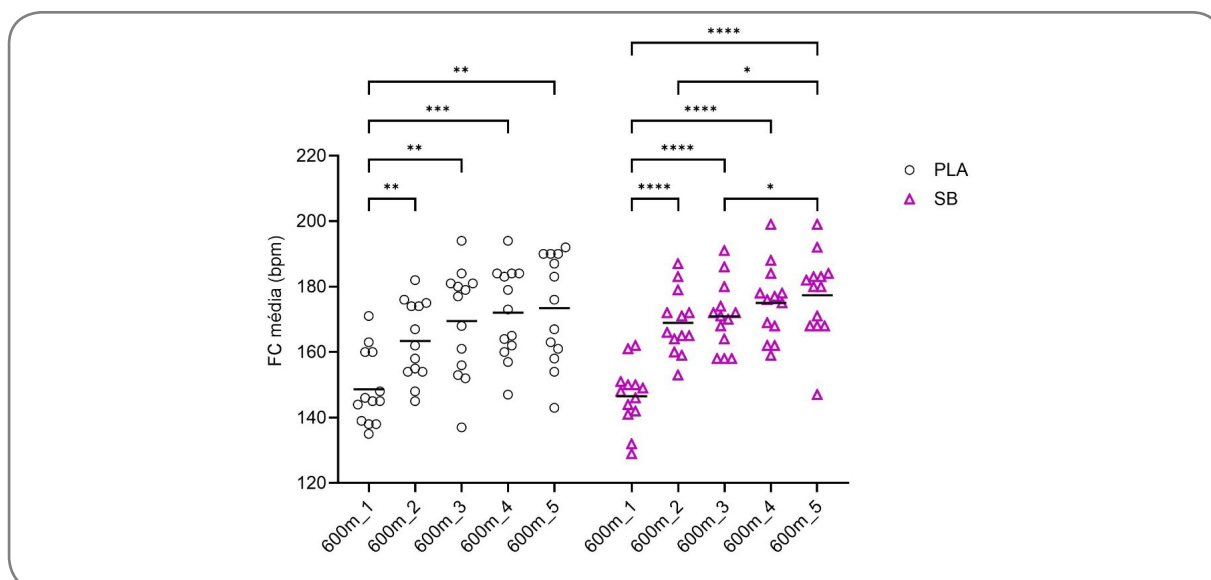


Figura 3 - Frequência cardíaca média registrada em cada intervalo de 600 m. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$. PLA, placebo; SB, suco de beterraba

Com base na frequência cardíaca de cada intervalo, podemos categorizar o exercício como de alta intensidade. Os valores relativos de frequência cardíaca estão apresentados na Tabela I, com a frequência cardíaca máxima estimada pela equação de Tanaka [10] ($208 - 0,7 \times \text{idade}$).

Tabela I - Intensidade relativa de cada intervalo de corrida com base na frequência cardíaca máxima individual estimada

	600m_1	600m_2	600m_3	600m_4	600m_5
PLA	$79 \pm 6 \%$ (72-90)	$87 \pm 6 \%$ (77-96)	$90 \pm 9 \%$ (72-103)	$91 \pm 7 \%$ (78-103)	$92 \pm 8 \%$ (76-102)
SB	$78 \pm 5 \%$ (71-86)	$90 \pm 5 \%$ (82-99)	$91 \pm 5 \%$ (84-101)	$93 \pm 6 \%$ (84-105)	$94 \pm 7 \%$ (78-105)

Percentual da frequência cardíaca máxima estimado pela equação de Tanaka ($208 - 0,7 \times \text{idade}$). Valores apresentados como média $\pm$ DP (mínimo-máximo). PLA, placebo; SB, suco de beterraba

Alterações no eritrograma e plaquetograma

Alterações significativas na série vermelha e nas plaquetas foram observadas logo após o exercício ou no período de recuperação, mas sem diferenças entre as condições (Tabela II).

Tabela II - Eritrograma e plaquetograma. (média $\pm$ DP)

	Placebo			Suco de beterraba		
	Pré	Pós	Pós-24h	Pré	Pós	Pós-24h
RBCs ($10^6/\text{mm}^3$)	4,8 $\pm$ 0,3	4,8 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,3 [*]	4,7 $\pm$ 0,4	4,8 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,3 [#]
HGB (g/dL)	14,4 $\pm$ 0,7	14,4 $\pm$ 1,0	13,8 $\pm$ 1,0 ^{*,#}	14,0 $\pm$ 0,9	14,4 $\pm$ 0,9	13,8 $\pm$ 0,9 [#]
HCT (%)	43,2 $\pm$ 2,2	43,5 $\pm$ 3,0	41,1 $\pm$ 2,8 ^{*,#}	42,2 $\pm$ 2,7	43,6 $\pm$ 3,0	41,1 $\pm$ 2,6 [#]
VCM (fL)	89,9 $\pm$ 2,7	90,3 $\pm$ 2,8	89,4 $\pm$ 2,8	89,0 $\pm$ 3,2	90,1 $\pm$ 3,9	89,3 $\pm$ 3,4
RDW (%)	12,7 $\pm$ 0,8	13,1 $\pm$ 0,9	13,0 $\pm$ 1,0	12,6 $\pm$ 0,6	13,2 $\pm$ 0,8 [*]	13,1 $\pm$ 1,0
Plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$)	237,3 $\pm$ 46,2	273,9 $\pm$ 65,2 [*]	235,1 $\pm$ 50,6 [#]	249,2 $\pm$ 62,9	275,8 $\pm$ 70,7 [*]	246,3 $\pm$ 64,6 [#]
VPM (fL)	11,5 $\pm$ 1,2	11,4 $\pm$ 1,2	11,0 $\pm$ 1,2	11,5 $\pm$ 1,0	11,3 $\pm$ 1,0	11,0 $\pm$ 1,0

RBCs = eritrócitos; HGB = hemoglobina; HCT = hematócrito; VCM = volume corpuscular médio; RDW = índice de anisocitose; MPV = volume plaquetário médio. * Diferente de Pré ($P \leq 0,05$); # Diferente de Pós ($P \leq 0,05$)

Para todas as variáveis, exceto volume corpuscular médio (VCM), houve um efeito principal significativo do tempo, mas não da suplementação e nem da interação suplementação x tempo, indicando que a corrida intervalada afetou tais variáveis seja de forma aguda ou nas 24h após o exercício.

Com relação à série vermelha, observamos uma redução significativa da contagem de eritrócitos no pós-24h, em comparação ao pós-imediato, em ambas as condições. A concentração de hemoglobina e o hematócrito também se apresentaram reduzidos 24h após o exercício, diferindo significativamente dos valores pré- e imediatamente após o exercício na condição placebo, e somente do imediatamente após na condição SB. Por outro lado, não houve variação significativa no tamanho desses eritrócitos, conforme identificado pelo VCM. Já o índice de anisocitose (RDW) aumentou significativamente imediatamente após o exercício em comparação ao pré, mas somente na condição suplementada.

As plaquetas apresentaram comportamento distinto em relação aos eritrócitos. Observou-se um aumento significativo induzido pela corrida intervalada com retorno aos níveis pré-exercício em 24h em ambas as condições. Apesar de ter sido evidenciado um efeito principal do tempo ($P = 0,0048$) sobre o volume plaquetário médio (VPM), as comparações múltiplas pós-hoc não revelaram diferenças significativas.

Alterações no leucograma

As alterações leucocitárias induzidas pelo exercício e pela suplementação estão apresentadas na Figura 4. A corrida intervalada ocasionou leucocitose significativa, sem interação entre as condições e retorno aos valores basais 24h pós-exercício na condição placebo, mas não na SB (Figura 4A).

O aumento na contagem de leucócitos foi influenciado principalmente pelos linfócitos. Em ambas as condições, a corrida aumentou significativamente o número de linfócitos, que reduziu 24h após o exercício, voltando aos valores pré-exercício em PLA, mas não em SB (Figura 4C). Para os neutrófilos, foi observado um efeito principal da suplementação ($P = 0,0231$; IC95% da diferença, 0,069-0,805) e o teste pós-hoc identificou que 24h após a corrida a contagem de neutrófilos permaneceu significativamente mais alta na condição SB do que na condição PLA, porém retornaram aos valores basais em ambas (Figura 4B). Já os eosinófilos mostraram comportamento distinto das demais subpopulações, sendo a única variável para a qual uma interação significativa foi observada ($P = 0,0092$). No momento pré-exercício, o total de eosinófilos foi significativamente maior em SB que PLA, ressaltando-se que no PLA os eosinófilos aumentaram nas 24h pós-corrida em vez de reduzir (Figura 4E). Os monócitos não foram afetados de forma significativa pela corrida ou pela suplementação (Figura 4D). A contagem de basófilos também apresentou um efeito principal do tempo, demonstrando-se mais elevada na condição SB no pré-exercício e apenas em PLA se detectou um aumento pós-exercício em comparação ao pré-exercício (Figura 4F).

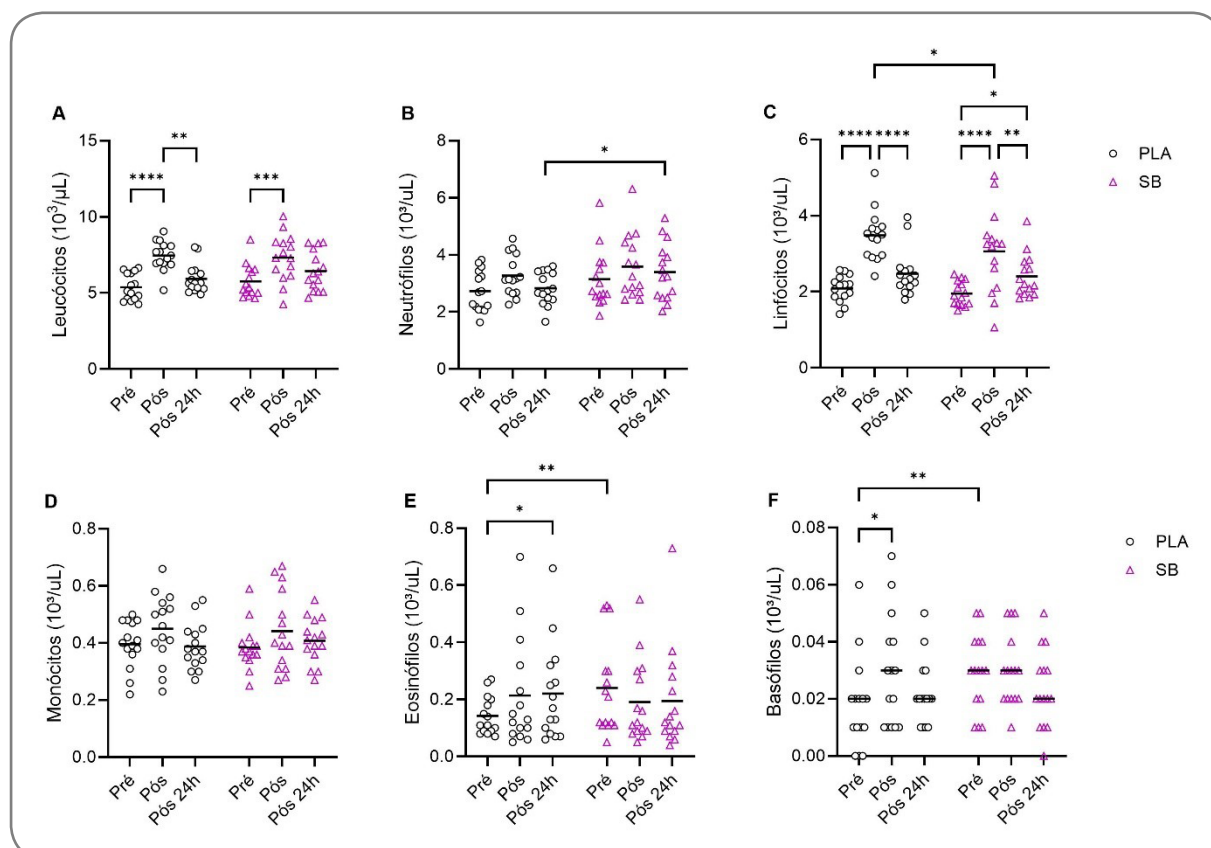


Figura 4 - Leucograma. A, leucócitos; B, neutrófilos; C, linfócitos; D, monócitos; E, eosinófilos; F, basófilos. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$

Discussão

O presente estudo investigou os efeitos da ingestão aguda de suco de beterraba no desempenho em corrida intervalada de alta intensidade e nas respostas hematológicas em indivíduos jovens e fisicamente ativos de ambos os sexos. Os principais resultados indicam que, embora a suplementação com suco de beterraba tenha sido segura e bem tolerada, ela não melhorou o desempenho no exercício nem modulou significativamente a maioria dos parâmetros hematológicos quando comparada ao placebo. No entanto, efeitos sutis em subpopulações de leucócitos sugerem um potencial papel imunomodulador do nitrato dietético em condições de alto estresse fisiológico.

O nitrato inorgânico, cuja principal fonte natural é a beterraba, é considerado um dos poucos suplementos nutricionais com evidências científicas robustas de eficácia e segurança de uso em diversas modalidades esportivas [2]. Mas, ao contrário das expectativas, a suplementação com nitrato não melhorou o desempenho em corrida intervalada. Os participantes mantiveram estratégias de ritmo semelhantes em todas as condições, com um padrão típico de sprint final, independentemente da suplementação. Além disso, o tempo total de exercício não foi diferente entre as condições. Esses achados contrastam com estudos que demonstram efeitos ergogênicos do nitrato em exercícios intervalados de alta intensidade ou em sprints repetidos [11,12], embora a literatura seja inconsistente [13]. Além disso, não encontramos estudos que tenham investigado um protocolo de exercício similar ao empregado no presente estudo (5 x 600 m com 30 s de intervalo), que é uma das provas do pentatlo moderno. Um protocolo similar foi utilizado no estudo de Santana *et al.* [14] que não identificou diferenças significativas no desempenho físico em uma prova de 4 x 400m.

A ausência de efeitos ergogênicos observada aqui pode dever-se ao nível de treinamento dos participantes do estudo. Há um número crescente de evidências que questiona a sua eficácia, particularmente em indivíduos com um elevado nível de condicionamento físico [15-17]. A nossa amostra foi constituída por jovens, militares, alunos do Curso de Instrutor de Educação Física do Exército. Embora não sejam atletas de modalidades esportivas específicas, todos apresentavam desempenho excelente no teste de aptidão física, incluindo na capacidade aeróbia. O $\text{VO}_{2\text{máx}}$ estimado dos participantes do estudo variou de 51 a 57 $\text{mLO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ entre as mulheres, e de 57 a 65 $\text{mLO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ entre os homens, o que é classificado como “superior” pelo Colégio Americano de Medicina do Esporte [18].

Os mecanismos subjacentes à ausência de efeitos do nitrato nessa população ainda são especulativos. Uma hipótese é que o treinamento resulte em otimização da síntese endógena de NO via óxido nítrico sintase de forma que o fornecimento exógeno de nitrato e nitrito seja inócuo. Um dado interessante de nosso grupo foi o de que os níveis plasmáticos de nitrato e nitrito não diferiram entre as condições SB e placebo, medidos logo após o exercício em mulheres pentatletas militares, apesar de estarem significativamente mais elevados antes do exercício, quando suplementados

[19]. Esse resultado sugere que a demanda de NO durante o exercício pode ser atendida pela síntese endógena em indivíduos bem treinados, não havendo benefícios adicionais da suplementação.

Além disso, a variabilidade interindividual na resposta à suplementação de nitrato está bem documentada e pode depender do nível de treinamento e da biodisponibilidade basal de óxido nítrico [20]. Também é possível que a suplementação aguda tenha sido insuficiente, visto que algumas evidências sugerem benefícios maiores com a ingestão crônica [17].

As respostas da frequência cardíaca confirmaram a alta demanda fisiológica do protocolo. A ausência de efeito da suplementação na frequência cardíaca está de acordo com estudos anteriores que mostram que a suplementação de nitrato não altera consistentemente as respostas cardiovasculares centrais durante o exercício aeróbico [21].

O protocolo de exercício induziu alterações hematológicas, independentemente da suplementação. A redução na contagem de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito 24 horas após o exercício provavelmente reflete hemodiluição e expansão do volume plasmático, em vez de perda real de eritrócitos [22]. O aumento no índice de anisocitose imediatamente após o exercício indica maior amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos e pode ter sido causado por estresse eritrocitário agudo, potencialmente relacionado a fatores mecânicos e oxidativos [23]. Cabe, no entanto, ressaltar que embora modificações significativas do ponto de vista estatístico tenham sido observadas, os valores permaneceram dentro da faixa de normalidade.

A contagem de plaquetas aumentou imediatamente após o exercício e retornou aos níveis basais em 24 horas, consistente com a ativação hemostática transitória mediada pela contração esplênica induzida por catecolaminas [24]. As plaquetas são elementos sanguíneos figurados, fundamentais para a hemostasia. Sabe-se que o exercício físico desempenha um papel duplo na fisiopatologia cardiovascular. Cronicamente, traz inúmeros benefícios tanto na prevenção quanto no tratamento de doenças cardiovasculares. No entanto, agudamente é um agente estressor, pelo aumento da atividade simpática, da demanda de oxigênio pelo miocárdio e, também, por favorecer um perfil pró-trombótico, particularmente em intensidades elevadas [25]. A suplementação com SB e o resultante aumento da biodisponibilidade de NO podem contrabalançar esse risco agudo pelo seus conhecidos efeitos inibitórios na ativação plaquetária e de vasodilatação [26]. No entanto, essa hipótese deve ser investigada em estudos adicionais, uma vez que está fora do escopo do presente estudo, embora o volume plaquetário médio possa ser considerado um indicador de ativação plaquetária.

Quanto à dinâmica dos leucócitos e os efeitos imunomoduladores, observou-se leucocitose induzida pelo exercício, com aumento de aproximadamente 42% na condição PLA e 31% em SB ($P = 0,394$). Tal incremento total de células da série branca foi impulsionado principalmente por linfócitos (aproximadamente 70% em PLA e 61% em SB; $P = 0,612$), seguida por um declínio durante as 24 h de recuperação. Essa

resposta bifásica reflete a redistribuição de células imunes e caracteriza o exercício agudo [27]. No entanto, o padrão observado no presente estudo difere do reportado em trabalho anterior que levantou as variações leucocitárias de 800 jovens praticando exercícios físicos [5], e indicou que o aumento na contagem de neutrófilos, não de linfócitos, foi o principal responsável pela leucocitose induzida pelo exercício.

Discutir esses achados, particularmente no contexto de exercício e suplementação, ainda é um desafio. Até onde sabemos, apenas um estudo foi realizado nesse sentido. Clifford *et al.* [28], partindo da premissa de uma potencial atividade antioxidante e anti-inflamatória dos fitonutrientes da beterraba e do papel crítico do NO na regulação da inflamação celular, ofereceram SB por três dias a jovens treinados após uma prova de maratona e não detectaram qualquer efeito do SB sobre a contagem de leucócitos e de suas subpopulações.

Em nosso estudo, observando a flutuação na contagem de linfócitos, ressalta-se que a suplementação com SB atenuou o aumento que ocorreu imediatamente pós-exercício quando comparado à condição PLA, cujos valores foram significativamente maiores do que em SB. Como mencionado na introdução, o NO gerado a partir da via nitrato-nitrito-NO é um regulador crítico da inflamação [4] e a betalaína e os polifenóis apresentam atividade anti-inflamatória [5], o que poderia explicar o efeito do SB em atenuar a leucocitose. No entanto, diante dos resultados do presente estudo, esta hipótese foi verdadeira apenas para a contagem de linfócitos, não explicando o comportamento das demais subpopulações leucocitárias, que, em geral, alcançaram concentrações significativamente maiores (neutrófilos, basófilos e eosinófilos) ou não foram afetadas pela suplementação de SB (monócitos).

É importante reconhecer que o presente estudo tem algumas limitações, por exemplo, a estimativa do *n* amostral utilizando um tamanho de efeito de 0,4, alfa de 0,05 e beta de 0,95 (software G Power) resultou em 16 participantes, mas obtivemos a participação de 15. Não medimos as concentrações sanguíneas de nitrato e nitrito sanguíneos, assumindo, com base em estudos anteriores de nosso laboratório, que a suplementação de 400 mg de nitrato por meio de suco de beterraba já seria capaz de aumentar significativamente tais concentrações em até duas horas [19]. Também não tivemos acesso às concentrações de fitonutrientes, suplemento comercialmente disponível que utilizamos, mas, considerando composto por pó de beterraba, assumimos que preservaria os teores originais encontrados na raiz. Por fim, fizemos coletas de sangue antes, imediatamente após e 24 horas após o exercício, o que pode ter impedido de observar o comportamento hematológico em momentos intermediários a estes.

Conclusão

Em conclusão, a suplementação aguda com suco de beterraba é segura, mas não melhora o desempenho em corridas intervaladas de alta intensidade. Embora as respostas hematológicas tenham permanecido praticamente inalteradas, as altera-

ções nas subpopulações de leucócitos sugerem um potencial efeito imunomodulador do nitrato dietético. Esses achados destacam a complexidade para a elucidação do papel da suplementação de nitrato no contexto da fisiologia do exercício e da nutrição esportiva.

Conflito de interesses

Os autores declaram não possuir conflito de interesses com o presente estudo

Financiamento

Nenhum

Contribuições dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Meirelles CM, Matsuura C; Obtenção de dados: Lourenci ML, Sena MAB, Rodrigues GC; Análise e interpretação dos dados: Rodrigues GC, Sena MAB, Meirelles CM, Matsuura C; Análise estatística: Matsuura C, Redação do manuscrito: Rodrigues GC, Meirelles CM, Matsuura C; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Meirelles CM, Matsuura C

Referências

1. Poon ET, Iu JC, Sum WM, Wong PS, Lo KK, Ali A, *et al.* Dietary nitrate supplementation and exercise performance: an umbrella review of 20 published systematic reviews with meta-analyses. *Sports Med.* 2025;55(5):1213-31. doi: 10.1007/s40279-025-02194-6
2. Antonio J, Pereira F, Curtis J, Rojas J, Evans C. The top 5 can't-miss sport supplements. *Nutrients.* 2024;16(19): 3247. doi: 10.3390/nu16193247
3. Mueller BJ, Roberts MD, Mobley CB, Judd RL, Kavazis AN. Nitric oxide in exercise physiology: past and present perspectives. *Front Physiol.* 2024;15:1504978. doi: 10.3389/fphys.2024.1504978
4. Waltz P, Escobar D, Botero AM, Zuckerbraun BS. Nitrate/nitrite as critical mediators to limit oxidative injury and inflammation. *Antioxidants & Redox Signaling.* 2015;23(4):328-39. doi: 10.1089/ars.2015.6256
5. Martinez RM, Melo CPB, Pinto IC, Mendes-Pierotti S, Vignoli JA, Verri WA, *et al.* Betalains: A narrative review on pharmacological mechanisms supporting the nutraceutical potential towards health benefits. *Foods.* 2024;13(23):3909. doi: 10.3390/foods13233909
6. Sand KL, Flatebo T, Andersen MB, Maghazachi AA. Effects of exercise on leukocytosis and blood hemostasis in 800 healthy young females and males. *World J Exp Med.* 2013;3(1):11-20. doi: 10.5493/wjem.v3.i1.11
7. Martins NC, Figueiredo PN, Rodrigues GC, Meirelles CM, Martins MA, editors. Suplementação com nitrato do suco de beterraba no desempenho físico e estresse oxidativo de pentatletas militares. X Congresso Norte e Nordeste de Nutrição Clínica e Esportiva; 2025; Brazil
8. Cooper KH. A means of assessing maximal oxygen intake. Correlation between field and treadmill testing. *JAMA.* 1968;203(3):201-4. doi: 10.1001/jama.1968.03140030033008
9. Wylie LJ, Kelly J, Bailey SJ, Blackwell JR, Skiba PE, Winyard PG, *et al.* Beetroot juice and exercise: pharmacodynamic and dose-response relationships. *J Appl Physiol.* 2013;115(3):325-36. doi: 10.1152/japplphysiol.00372.2013
10. Tanaka H, Monahan KD, Seals DR. Age-predicted maximal heart rate revisited. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37(1):153-6. doi: 10.1016/s0735-1097(00)01054-8
11. Thompson C, Vanhatalo A, Jell H, Fulford J, Carter J, Nyman L, *et al.* Dietary nitrate supplementation improves sprint and high-intensity intermittent running performance. *Nitric Oxide.* 2016;61:55-61. doi: 10.1016/j.niox.2016.10.006
12. Wong TH, Sim A, Burns SF. The effect of beetroot ingestion on high-intensity interval training: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2021;13(11):3674. doi: 10.3390/nu13113674
13. Robinson GP, Killer SC, Stoyanov Z, Stephens H, Read L, James LJ, *et al.* Influence of dietary nitrate

supplementation on high-intensity intermittent running performance at different doses of normobaric hypoxia in endurance-trained males. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2021;31(1):1-8. doi: 10.1123/ijsnem.2020-0198

14. Heibel AB, Perim PHL, Saunders B, Heibel AB, Abrantes DM, Rauber CF, *et al.* Abstracts from ISSN Brazil. *Journal of the International Society of Sports Nutrition.* 2017;14(Supl1):8. doi: 10.1186/s12970-017-0164-0

15. Peacock O, Tjønnå AE, James P, Wisløff U, Welde B, Böhlke N, *et al.* Dietary nitrate does not enhance running performance in elite cross-country skiers. *Med Sci Sports Exerc.* 2012;44(11):2213-9. doi: 10.1249/MSS.0b013e3182640f48

16. Sandbakk SB, Sandbakk Ø, Peacock O, James P, Welde B, Stokes K, *et al.* Effects of acute supplementation of L-arginine and nitrate on endurance and sprint performance in elite athletes. *Nitric Oxide.* 2015;48:10-5. doi: 10.1016/j.niox.2014.10.006

17. Senefeld JW, Wiggins CC, Regimbal RJ, Dominelli PB, Baker SE, Joyner MJ. Ergogenic effect of nitrate supplementation: A systematic review and meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc.* 2020;52(10):2250-61. doi: 10.1249/mss.0000000000002363

18. ACSM. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 12 ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2025

19. Figueiredo PN. Efeitos agudos do suco de beterraba sobre o desempenho físico, o estresse oxidativo e o perfil metabólico em pentatletas militares do sexo feminino [Dissertação]. Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 2025

20. Hayes E, Alhulaefi S, Siervo M, Whyte E, Kimble R, Matu J, *et al.* Inter-individual differences in the blood pressure lowering effects of dietary nitrate: a randomised double-blind placebo-controlled replicate crossover trial. *Eur J Nutr.* 2025;64(2):101. doi: 10.1007/s00394-025-03616-x

21. Yuschen X, Choi JH, Seo J, Sun Y, Lee E, Kim SW, *et al.* Effects of acute beetroot juice supplementation and exercise on cardiovascular function in healthy men in preliminary study: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, and crossover trial. *Healthcare (Basel).* 2024;12(13). doi: 10.3390/healthcare12131240

22. Sawka MN, Convertino VA, Eichner ER, Schnieder SM, Young AJ. Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(2):332-48. doi: 10.1097/00005768-200002000-00012

23. Lippi G, Salvagno GL, Danese E, Tarperi C, Guidi GC, Schena F. Variation of red blood cell distribution width and mean platelet volume after moderate endurance exercise. *Adv Hematol.* 2014;2014:192173. doi: 10.1155/2014/192173

24. Schaffner A, Augustiny N, Otto RC, Fehr J. The hypersplenic spleen. A contractile reservoir of granulocytes and platelets. *Arch Intern Med.* 1985;145(4):651-4. doi: 10.1001/archinte.145.4.651

25. Bärtsch P. Platelet activation with exercise and risk of cardiac events. *Lancet.* 1999;354(9192):1747-8. doi: 10.1016/s0140-6736(99)90259-3

26. Walford G, Loscalzo J. Nitric oxide in vascular biology. *J Thromb Haemost.* 2003;1(10):2112-8. doi: 10.1046/j.1538-7836.2003.00345.x

27. Nieman DC. Exercise immunology: practical applications. *Int J Sports Med.* 1997;18 Suppl 1:S91-100. doi: 10.1055/s-2007-972705

28. Clifford T, Allerton DM, Brown MA, Harper L, Horsburgh S, Keane KM, *et al.* Minimal muscle damage after a marathon and no influence of beetroot juice on inflammation and recovery. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2017;42(3):263-70. doi: 10.1139/apnm-2016-0525

