

IANE DE PAIVA NOVAIS

**NÍVEIS PLASMÁTICOS DE NITRITO/NITRATO, GMP_c E CORTISOL
EM MULHERES NORMOTENSAS E HIPERTENSAS APÓS A
MENOPAUSA: EFEITO CRÔNICO DO EXERCÍCIO FÍSICO E
EXPOSIÇÃO AGUDA À L-ARGININA**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências da Motricidade.

Orientadora: Prof^a Dra. Angelina ZanESCO

RIO CLARO - SP

MaiO/2015

617.1027 Novais, Iane de Paiva
N935n Níveis plasmáticos de nitrito/nitrato, GMPc e cortisol em
mulheres normotensas e hipertensas após a menopausa : efeito
crônico do exercício físico e exposição aguda à L-arginina /
Iane de Paiva Novais. - Rio Claro, 2015
130 f. : il., figs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Angelina Zanesco

1. Medicina esportiva. 2. Hipertensão arterial. 3.
Exercício aeróbio. 4. Óxido nítrico. 5. Estresse oxidativo. I.
Título.

AGRADECIMENTOS

O final de um ciclo sempre faz passar um filme na cabeça! Gostaria de agradecer as pessoas que estiveram ao meu lado e também aquelas que torceram por mim.

À minha mãe, por ter me dado educação e formação como ser humano, por ter me ensinado princípios, por ter me passado o significado de conceitos como respeito e caráter, por sempre me encorajar a seguir em frente, por ser mais que uma mãe, por ser minha melhor amiga, e por ser sempre a minha base, mesmo que esteja a km de distância!.. Mãe, você nunca reconhecerá o seu valor na minha vida, pois ele é imensurável! Você é responsável por grande parte das minhas conquistas. Obrigada por ser a melhor mãe do mundo!

Agradeço ao meu pai, que sempre entendeu a minha ausência e me incentivou a correr atrás dos meus objetivos. Saber que eu podia contar com você para conquistar meus sonhos, sempre me deixou mais segura pra poder arriscar. A nossa distância aumentou, mas a sua importância na minha vida também! Tenho muita gratidão por tudo o que você fez e faz por mim!.. Te amo muito mesmo!

Obrigada à todas as amigas da faculdade (Lulu's) que ainda hoje se fazem presente. Thays, em especial, pois caminhamos juntas desde a graduação e nossos destinos estão sempre se cruzando. Obrigada por me ensinar a ser uma pessoa melhor, por estar ao meu lado em todos os momentos, por me ensinar o verdadeiro significado de amizade e cumplicidade. Ana Paula, Gi e Jack, vocês estão no meu coração! Obrigada pela torcida de sempre! Vocês são amigas pra vida toda!

Agradeço também aos amigos que fiz em Rio Claro. Tive oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas, como Jessica, Sissy e Leo, Rô e amigos do vôlei. Angelica, à você o meu obrigada por tudo! Nunca pensei em encontrar uma amiga que eu me identificasse tanto! Se fôssemos do mesmo sangue, não seríamos tão parecidas! Você foi um dos grandes presentes que ganhei em Rio Claro! Obrigada por sua amizade, por estar sempre ao meu lado e por ser minha irmã de coração!

Aos colegas de laboratório, obrigada por me ensinar um pouco da arte da convivência. A adaptação com pessoas tão diferentes do que eu estava acostumada talvez tenha sido um dos meus grandes desafios em Rio Claro. Um agradecimento especial ao Guilherme Puga, que guiou os meus primeiros passos em um início difícil do doutorado direto e foi a pessoa que me ajudou a começar esse projeto. Aprendi muito com você! Você com certeza é merecedor de hoje ser professor na UFU. Agradeço também à Aline, que foi/é uma grande parceira. A certeza de poder contar com você em determinados momentos foi muito

importante pra mim! Tenho enorme consideração por você! Obrigada por tudo! Obrigada, Maria Andreia Delbin! Você com certeza foi uma grande fonte de inspiração pra mim por ser extremamente competente e dedicada ao trabalho, mas sem nunca deixar a vida pessoal de lado! Além de ser linda, claro! Hahaha! Você sempre esteve disposta a ensinar o que sabe e somente grandes mestres possuem essa qualidade. Tenho certeza que em um futuro pouco distante, você será uma das maiores e melhores pesquisadoras desse país!

Gostaria de deixar o meu agradecimento especial às mulheres que participaram desse estudo como voluntárias. Sei que muitas vezes abdicaram de marido, filhos e netos pra se dedicarem ao treinamento físico e foram fiéis ao que se comprometeram. Obrigada por terem sido mais que voluntárias de uma pesquisa. Vocês foram também minhas amigas, mães, companheiras, conselheiras e confidentes.

Obrigada às enfermeiras que contribuíram no desenvolvimento desse projeto. À Juliana, que trabalhou comigo por muito tempo e que virou uma amiga de verdade. Ju, te quero muito bem! Também Aline e Vanessa que vieram em seguida e me ajudaram muito!.. Eu também torço muito por vocês e agradeço por todo o suporte.

Além disso, não posso deixar de agradecer aos funcionários do Instituto de Biociências da UNESP pelo apoio durante essa jornada, bem como à agência de fomento FAPESP pelo suporte financeiro e por acreditar e investir nesse trabalho.

Por fim, mas não menos importante, gostaria de agradecer à minha orientadora, supervisora, professora e tutora Angelina. Admiro demais você e sou muito grata por tudo que me ensinou. Poucos docentes tem a mesma dedicação e amor pelo que fazem como vemos em você. Obrigada por me ensinar a ter ética dentro da pesquisa e a me mostrar, com seus exemplos, como ser uma ótima professora. Obrigada por toda a confiança, por me dar liberdade e por me segurar nas horas certas, pelo incentivo, pelo seu suporte e pela oportunidade de crescer pessoal e profissionalmente ao seu lado. Se fosse pra começar o doutorado de novo, eu novamente escolheria ter você como orientadora! Obrigada por tudo mesmo.

Enfim, sou muito grata à todas as pessoas envolvidas nesse projeto e aos amigos que ganhei/mantive durante essa fase da minha vida. Obrigada à todos pela torcida e pelas boas energias.

APOIO FINANCEIRO

Este projeto contou com o auxílio bolsa FAPESP Processo 2010/14.933-0.

“Domine todas as teorias, conheça todas as técnicas. Mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.”

(Carl Gustav Jung)

RESUMO

Após o período da menopausa, as mulheres passam a ter alta prevalência de hipertensão arterial. Embora os mecanismos não estejam completamente elucidados, evidências em modelos experimentais atribuem o maior risco de desenvolver doenças cardiovasculares à redução dos estrógenos associada ao estresse oxidativo e disfunção endotelial. Já está bem estabelecido que o exercício físico é capaz de promover efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular, atuando na via do óxido nítrico (NO), vasodilatador considerado essencial para o controle da pressão arterial (PA). Sua síntese ocorre a partir da L-arginina e, nesse sentido, muitos estudos demonstraram que a administração deste aminoácido pode melhorar a função vascular. No entanto, não foi avaliado se a associação de L-arginina e exercício físico potencializa os benefícios alcançados isoladamente, especialmente em mulheres que apresentam risco cardiovascular. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos crônicos e agudos do exercício físico aeróbio, bem como da exposição aguda à L-arginina, sobre respostas cardiovasculares e biomarcadores endócrino-metabólicos em mulheres normotensas (NT) e hipertensas (HT) na pós-menopausa. Os dados a serem apresentados foram divididos em dois momentos. O objetivo do Estudo 1 foi avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio (TFA) sobre os parâmetros antropométricos, cardiovasculares e bioquímicos/hormonais em mulheres NT e HT na pós-menopausa. Participaram deste estudo 33 mulheres NT e 28 HT. Foram realizadas avaliações antropométrica, cardiovascular e de aptidão física, além de exame sanguíneo de jejum para análise de perfil lipídico, glicemia, via NO/GMPc, hormônios esteróides (cortisol e testosterona) e marcadores do estresse oxidativo (superóxido dismutase, catalase, malondialdeído). Posteriormente, as participantes foram submetidas a 8 semanas de TFA e, ao final, os parâmetros foram reavaliados. Os resultados encontrados mostraram que o TFA pode contribuir para aumentar a ativação da via NO/GMPc de mulheres hipertensas na pós-menopausa, o que poderia melhorar a função endotelial e aumentar a defesa antioxidante nessa população de alto risco cardiovascular. Embora estudos experimentais sugerem que alterações nos níveis de testosterona e cortisol poderiam estar envolvidos na gênese da hipertensão arterial em mulheres na pós-menopausa, este estudo não encontrou essa associação. No Estudo 2 foram avaliados os efeitos do TFA sobre as respostas cardiovasculares e endócrino-metabólicas frente à exposição aguda com exercício físico aeróbio e administração de L-arginina em mulheres NT e HT na pós-menopausa. As participantes foram divididas em 3 grupos, realizando um desafio agudo experimental: ARG (administração de L-arginina); EXE (administração de placebo + exercício físico); e ARG+EXE (administração de L-arginina + exercício físico). Foram realizadas coletas sanguíneas em 4 momentos: antes da administração com L-arginina/placebo, antes de iniciar o exercício físico, e por fim, 45 e 90 minutos após o exercício, com objetivo de analisar o comportamento da via do NO/GMPc e cortisol. A PA foi monitorada durante todo o procedimento e em seguida foi instalado o aparelho de monitorização ambulatorial da PA. Posteriormente, as participantes foram submetidas ao TFA e, ao final, os parâmetros foram reavaliados. Em conjunto, os resultados encontrados mostram que o treinamento físico foi capaz de promover redução na concentração de cortisol, bem como na variabilidade da PA diastólica em mulheres hipertensas na pós-menopausa, alterações observadas somente após estímulo com a combinação de L-arginina e exercício físico.

Palavras-chave: Menopausa. Hipertensão. Exercício físico. L-arginina. Cortisol. Óxido nítrico.

ABSTRACT

After menopause, women start to present an increased prevalence of arterial hypertension. Although the mechanisms have not been completely elucidated, evidences from experimental models have attributed an increased risk of developing cardiovascular disease in this stage to decreased estrogen levels associated with oxidative stress and endothelial dysfunction. It is well established that physical exercise may promote beneficial effects on the cardiovascular system, acting on the nitric oxide (NO) pathway, which is a potent vasodilator released by the endothelium and regarded as essential to blood pressure (BP) control. The NO synthesis results from L-arginine substrate and several studies have demonstrated the administration of this amino acid may increase vascular function. However, the association of L-arginine and physical exercise has not been proved to potentialize the benefits provided by these elements isolatedly, especially on women presenting increased cardiovascular risk. Thus, this study aimed to investigate the chronic and acute effects of aerobic physical exercise and of acute L-arginine administration on the cardiovascular responses and endocrine-metabolic biomarkers in normotensive (NT) and hypertensive (HT) postmenopausal women as well. For this, the collected data were presented in two different moments, named Study 1 and Study 2. The objective of Study 1 was to evaluate the aerobic physical training (APT) effects on anthropometric, cardiovascular and hormonal/biochemical parameters in NT and HT postmenopausal women. Sixty-one postmenopausal women were enrolled – 33 NT and 28 HT. Anthropometric, cardiovascular and physical capacity were performed, as well as fasting blood assay to lipid profile, glycemia, NO/cGMP pathway, steroid hormones (cortisol and testosterone) and biomarkers of oxidative stress (dismutase superoxide, catalase and malondialdehyde). Posteriorly, all the participants were submitted to 8 weeks of APT and the parameters were eventually reassessed. Our findings showed that APT can contribute to increase NO/cGMP pathway activation in hypertensive postmenopausal women, which could improve the endothelial function and increase the antioxidant defense on this high cardiovascular risk population. Although experimental studies have suggested that alterations in the cortisol and testosterone levels could be involved in the genesis of postmenopausal hypertension, we did not find this association. Study 2 evaluated APT effects on cardiovascular and endocrine-metabolic responses to a challenge with acute physical exercise and L-arginine administration in NT and HT postmenopausal women. The participants were divided into 3 groups performing experimental acute challenge as follows: ARG (L-arginine administration); EXE (placebo administration + physical exercise); and ARG+EXE (L-arginine administration + physical exercise). Venous blood was collected in 4 moments: before L-arginine/placebo administration, before the exercise, and then 45 and 90 minutes after the exercise. The aim was to analyze the NO/cGMP and cortisol behavior. BP was monitored throughout the process, and then, ambulatory BP. Posteriorly, all the participants were submitted to 8 weeks of APT and the parameters were eventually reassessed. Our findings showed that APT was able to promote decreased cortisol levels and diastolic BP variability in hypertensive postmenopausal women, which were observed after the stimulus with the association of L-arginine and physical exercise.

Keywords: Menopause. Hypertension. Physical exercise. L-arginine. Cortisol. Nitric oxide.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		Página
Figura 1.	Fases do climatério	18
Figura 2.	Síntese de óxido nítrico a partir do aminoácido L-arginina	23
Figura 3.	Mecanismo de ação do óxido nítrico e relaxamento do músculo liso vascular ...	24
Figura 4.	Estrutura molecular da óxido nítrico sintase (NOS).....	25
Figura 5.	Sistema oxidante e antioxidante	28
Figura 6.	Delineamento experimental dos Estudos apresentados	37
Figura 7.	Delineamento experimental	39
Figura 8.	Desenho do protocolo do desafio agudo experimental com divisão de grupos ...	43
Figura 9.	Desenho do protocolo do desafio agudo experimental	44
Figura 10.	Duração das sessões do programa de treinamento físico	47
Figura 11.	Seleção das voluntárias	53
Figura 12.	Características da terapia anti-hipertensiva	55
Figura 13.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre os parâmetros antropométricos em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	56
Figura 14.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a concentração de lactato sanguíneo durante a sessão de exercício correspondente à MFEL em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	58
Figura 15.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a intensidade correspondente à MFEL em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.	59
Figura 16.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a pressão arterial e frequência cardíaca de repouso em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	60
Figura 17.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a via do NO e estresse oxidativo em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	61
Figura 18.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre os níveis hormonais em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	62
Figura 19.	Desenho do protocolo do desafio agudo experimental	71
Figura 20.	Comportamento da pressão arterial sistólica (PAS) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	73
Figura 21.	Comportamento da pressão arterial diastólica (PAD) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	75

Figura 22.	Comportamento da frequência cardíaca (FC) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	76
Figura 23.	Comportamento do nitrito/nitrato (NOx ⁻) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	78
Figura 24.	Comportamento da guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	79
Figura 25.	Comportamento do cortisol e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	81
Figura 26.	Comportamento da pressão arterial sistólica (PAS) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	83
Figura 27.	Média da pressão arterial sistólica (PAS) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas nos momentos de vigília, sono e total	84
Figura 28.	Comportamento da pressão arterial diastólica (PAD) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	85
Figura 29.	Média da pressão arterial diastólica (PAD) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas nos momentos de vigília, sono e total	86
Figura 30.	Comportamento da frequência cardíaca (FC) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	87
Figura 31.	Média da frequência cardíaca (FC) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas nos momentos de vigília, sono e total	88
Figura 32.	Variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	89
Figura 33.	Variabilidade da pressão arterial diastólica (PAD) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	90
Figura 34.	Área abaixo da curva (AUC) da variação da pressão arterial sistólica (PAS) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	92
Figura 35.	Área abaixo da curva (AUC) da variação da pressão arterial diastólica (PAD) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	93

Figura 36.	Área abaixo da curva (AUC) da variação da frequência cardíaca (FC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	94
Figura 37.	Área abaixo da curva (AUC) da variação do nitrito/nitrato (NO_x^-) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	95
Figura 38.	Área abaixo da curva (AUC) da variação da guanosina monofosfato cíclico (GMPc) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	96
Figura 39.	Área abaixo da curva (AUC) da variação do cortisol durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	97
Figura 40.	Área abaixo da curva (AUC) da variação da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	99
Figura 41.	Área abaixo da curva (AUC) da variação do nitrito/nitrato (NO_x^-), da guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e cortisol durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	100
Figura 42.	Comportamento da pressão arterial sistólica (PAS) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	101
Figura 43.	Comportamento da pressão arterial diastólica (PAD) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	102
Figura 44.	Comportamento da frequência cardíaca (FC) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	103
Figura 45.	Comportamento do nitrito/nitrato (NO_x^-) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	104
Figura 46.	Comportamento da guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	105
Figura 47.	Comportamento do cortisol e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	107
Figura 48.	Cálculo da variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas	108

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Escala de percepção subjetiva de esforço (PSE)	41
Tabela 2.	Número de voluntárias normotensas e hipertensas de acordo com o desafio agudo experimental	42
Tabela 3.	Características gerais das voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT)	54
Tabela 4.	Relação dos tipos de medicamentos utilizados pelas voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT)	55
Tabela 5.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre o perfil lipídico e glicêmico em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	57
Tabela 6.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a frequência cardíaca e percepção subjetiva de esforço durante a sessão de exercício correspondente à MFEL em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	59
Tabela 7.	Efeito do treinamento físico aeróbio em voluntárias normotensas e hipertensas..	63
Tabela 8.	Número de voluntárias normotensas e hipertensas de acordo com o desafio agudo experimental	71
Tabela 9.	Efeitos dos desafios agudos isoladamente nas mulheres normotensas	109
Tabela 10.	Efeitos dos desafios agudos isoladamente nas mulheres hipertensas	109
Tabela 11.	Comparação entre os desafios agudos (AUC Δ) nas mulheres normotensas	110
Tabela 12.	Comparação entre os desafios agudos (AUC Δ) nas mulheres hipertensas	110
Tabela 13.	Comparação entre normotensas (NT) e hipertensas (HT)	111
Tabela 14.	Efeito do treinamento físico nos desafios agudos	111
Tabela 15.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre os parâmetros antropométricos em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	127
Tabela 16.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a intensidade e a concentração de lactato sanguíneo durante a sessão de exercício correspondente à MFEL em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	127
Tabela 17.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a pressão arterial e frequência cardíaca de repouso em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	128
Tabela 18.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a via do NO e estresse oxidativo em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	128
Tabela 19.	Efeito do treinamento físico aeróbio sobre os níveis hormonais em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa	128
Tabela 20.	Características qualitativas das voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT)	129

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADMA	Dimetilarginina assimétrica
ARG	Grupo arginina
ARG+EXE	Grupo arginina + exercício
AUC	Área abaixo da curva
BH4	Tetrahidrobiopterina
Ca²⁺	Cálcio
DCV	Doenças cardiovasculares
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EDFH	Fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio
EPM	Erro padrão da média
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EXE	Grupo exercício
FAD	Flavina adenina dinucleotídeo
FC	Frequência cardíaca
FMN	Flavina mononucleotídeo
FSH	Hormônio folículo-estimulante
GCs	Guanilato ciclase solúvel
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
GPx	Glutathione peroxidase
HA	Hipertensão arterial
HT	Hipertensas
IL-1	Interleucina-1
IMC	Índice de massa corporal
IP₃	Inositol-1,4,5-trifosfato
[Lac]	Concentração de lactato
L-NMMA	N-monometil-L-arginina
LH	Hormônio luteinizante
MDA	Malondialdeído
MFEL	Máxima fase estável de lactato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NO	Óxido nítrico

NOS	Óxido nítrico sintase
NOx⁻	Nitrito/nitrato
NT	Normotensas
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PSE	Percepção subjetiva de esforço
RCQ	Razão cintura-quadril
SOD	Superóxido dismutase
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TF	Treinamento físico
TNF-α	Fator de necrose tumoral
TRH	Terapia de reposição hormonal

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1) <i>Climatério</i>	18
2.2) <i>Menopausa e Doenças Cardiovasculares</i>	19
2.3) <i>Hipertensão Arterial</i>	20
2.4) <i>L-Arginina e Óxido Nítrico</i>	22
2.5) <i>Administração de L-arginina e Doenças Cardiometabólicas</i>	25
2.6) <i>Disfunção Endotelial e Estresse Oxidativo</i>	26
2.7) <i>Menopausa e Andrógenos</i>	30
2.8) <i>Menopausa e Cortisol</i>	31
2.9) <i>Exercício Físico</i>	32
3. HIPÓTESE	35
4. OBJETIVOS	36
4.1) <i>Objetivo Geral</i>	36
4.2) <i>Objetivos Específicos</i>	36
5. MATERIAL E MÉTODOS	38
5.1) <i>Participantes</i>	38
5.2) <i>Critérios de Inclusão e Exclusão</i>	38
5.3) <i>Caracterização do Quadro Hipertensivo</i>	38
5.4) <i>Procedimentos</i>	39
5.5) <i>Parâmetros Antropométricos</i>	39
5.6) <i>Parâmetros Cardiovasculares de Repouso</i>	40
5.7) <i>Avaliação da Aptidão Aeróbia</i>	40
5.8) <i>Coleta Sanguínea em Jejum</i>	42
5.9) <i>Desafio Agudo Experimental</i>	42
5.10) <i>Programa de Treinamento Físico Aeróbio</i>	46
5.11) <i>Análises Bioquímicas</i>	47

	ESTUDO 1	51
6.	OBJETIVO	52
7.	TRATAMENTO ESTATÍSTICO	52
8.	RESULTADOS	53
	8.1) <i>Características Gerais</i>	54
	8.2) <i>Uso de Medicamentos</i>	54
	8.3) <i>Avaliação Antropométrica</i>	56
	8.4) <i>Análise de Perfil Lipídico e Glicemia em Jejum</i>	57
	8.5) <i>Avaliação da Aptidão Aeróbia</i>	57
	8.6) <i>Avaliação Cardiovascular</i>	59
	8.7) <i>Avaliação Bioquímica</i>	60
9.	SUMÁRIO DOS RESULTADOS	63
10.	DISCUSSÃO	64
11.	CONCLUSÕES	68
	ESTUDO 2	69
12.	OBJETIVO	70
13.	TRATAMENTO ESTATÍSTICO	70
14.	RESULTADOS	71
	14.1) <i>Análise do comportamento dos desafios agudos</i>	72
	14.2) <i>Comparação entre os desafios</i>	91
	14.3) <i>Comparação entre normotensas e hipertensas</i>	98
	14.4) <i>Efeito do treinamento físico nos desafios agudos</i>	100
15.	SUMÁRIO DOS RESULTADOS	109
16.	DISCUSSÃO	112
17.	CONCLUSÃO	115
18.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
19.	ANEXOS	126
	19.1) <i>Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências</i>	126
	19.2) <i>Resultados apresentados no Estudo 1</i>	127
	19.3) <i>Características qualitativas das voluntárias normotensas e hipertensas</i>	129

1. INTRODUÇÃO

O período da pós menopausa está associado com aumento do risco de desenvolver doenças cardiovasculares (DCV) nas mulheres (Reckelhoff & Fortepiani, 2004). De fato, a incidência de doença cardiovascular é menor em mulheres na idade reprodutiva, no entanto, torna-se similar à do homem após a menopausa (American Heart Association, 2010). Os mecanismos responsáveis por este fenômeno ainda não foram completamente esclarecidos e diversas hipóteses tem sido propostas, como a deficiência de estrogênio bem como o desbalanço na razão estrogênio/androgênio poderiam levar ao aumento da atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), maior ativação do sistema simpático, estresse oxidativo, aumento dos mediadores inflamatórios e disfunção endotelial (Maranon & Reckelhoff, 2013).

A deficiência nas concentrações de estrogênio poderia levar a diminuição na produção e biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), um importante vasodilatador produzido nas células endoteliais, o que poderia explicar, em parte, a alta prevalência de hipertensão arterial em mulheres após a menopausa (Knowlton & Lee, 2012; Maranon & Reckelhoff, 2013). No entanto, grande parte desses achados são baseados em modelo experimental, o que não reflete efetivamente a fisiopatologia presente em mulheres pós-menopausadas.

A terapia de reposição hormonal (TRH), por sua vez, tem sido utilizada para o tratamento dos sintomas na pós-menopausa e para reduzir o risco de doenças cardiovasculares. Interessantemente, estudos recentes estratificado por idade dados obtidos em estudos clínicos com TRH e acompanhados pela Women's Health Initiative (WHI) falharam em demonstrar efeitos cardiovasculares benéficos da reposição hormonal e revelaram, inclusive, o aumento do risco cardiovascular com uso de TRH após 10 anos de advento da menopausa (Rossouw et al, 2002; Bhupathiraju & Manson, 2014), sugerindo, dessa forma, que outros fatores podem estar relacionados à maior gênese de hipertensão em mulheres após a menopausa.

Além disso, baseado em modelo experimental de menopausa, tem sido demonstrado que o aumento na produção de androgênios associado à deficiência de estrogênios poderia levar a aumento de adiposidade visceral, causando elevação dos mediadores inflamatórios e estresse oxidativo, resultando em hipertensão arterial (Maranon & Reckelhoff, 2013). Assim, a hipótese de que o desbalanço na razão estrogênio/androgênio possa explicar a alta prevalência de hipertensão após a menopausa é plausível, ainda

considerando que existe aumento de adiposidade em mulheres pós-menopausadas. No entanto, mais estudos ainda são necessários para comprovar essa questão.

Por outro lado, acredita-se que o estrogênio possa modular o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, reduzindo os níveis plasmáticos de cortisol (Straub, 2007; Veldhuis, Sharma & Roelfsema, 2013). Até o momento, se o cortisol possui papel regulatório aumentando a pressão arterial em mulheres após a menopausa ainda não está estabelecido. Peeke & Chrousos (1995) mostraram que existe relação entre hipercortisolismo e adiposidade visceral em sujeitos hipertensos. E embora um estudo tenha mostrado que mulheres jovens apresentam níveis de cortisol menores quando comparados a mulheres pós-menopausadas (Van Cauter, Leproult & Kupfer, 1996), outros estudos falharam em demonstrar diferenças entre mulheres na pré e na pós menopausa (McInnes et al, 2012; Yamatani et al, 2013).

Dado o maior risco de eventos cardiovasculares em mulheres após a menopausa e associado a ineficácia da TRH em controlar os níveis de pressão arterial (PA), várias estratégias de intervenção não medicamentosas, como dieta e exercício físico, são utilizadas para o combate e prevenção da hipertensão arterial. Particularmente, o exercício físico desempenha papel muito importante no controle da pressão arterial. Os efeitos benéficos do exercício físico, principalmente o aeróbio, são caracterizados por reduções dos valores de repouso da PA, tanto cronicamente, decorrente do treinamento com exercícios físicos, quanto agudamente, pois há uma redução da pressão arterial abaixo dos níveis iniciais de repouso, decorrente de uma sessão de exercício físico. A magnitude dessa redução da PA logo após uma sessão de exercício físico é dependente de vários fatores, como intensidade e duração do exercício, grau de comprometimento causado pela patologia em pacientes com doenças cardiovasculares e dos níveis iniciais de pressão arterial antes da realização do exercício físico (Forjaz et al, 2000; MacDonald, 2002; Casonatto et al, 2011; Halliwill et al, 2013).

A redução da PA logo após o exercício físico pode estar associada à melhora da disfunção endotelial por meio da maior biodisponibilidade de NO, decorrente da elevação do *shear stress* e ativação de proteínas sensíveis ao fluxo sanguíneo presentes nas células endoteliais (Goto et al, 2007; Zanesco & Antunes, 2007). O NO está diretamente ligado à vasodilatação e, conseqüentemente, à melhora da função endotelial durante o exercício físico (Goto et al, 2007). Desta maneira, estratégias como o aumento da biodisponibilidade de NO através da administração de L-arginina (aminoácido precursor da formação do NO), tem sido utilizada para melhorar o fluxo sanguíneo, aumentar a vasodilatação e melhorar a regulação

da pressão arterial (Gokce, 2004; Böger, 2007; Lucotti et al, 2009; Puga, Novais & Zanesco, 2011).

Poucos estudos investigaram os efeitos decorrentes da administração aguda de L-arginina visando melhorias na saúde cardiovascular e metabólica (Lekakis et al, 2002; Neri et al, 2010; Alvares et al, 2012). Além disso, a associação desta intervenção com a realização de exercícios físicos ainda carece de novos estudos para verificar seus efeitos conjuntos. Essas estratégias poderiam beneficiar a regulação da pressão arterial principalmente em populações que possuam maior risco de desenvolver doenças cardiovasculares, como mulheres após a menopausa. Assim, neste estudo, iremos abordar os efeitos agudos da administração de L-arginina aliada à realização de exercício físico aeróbio em mulheres hipertensas após a menopausa, visando avaliar as respostas cardiometabólicas e os possíveis efeitos benéficos desta intervenção nessas mulheres. Além disso, investigamos os mecanismos envolvidos na gênese de hipertensão em mulheres após a menopausa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1) Climatério

O climatério representa a transição fisiológica da vida reprodutiva para a não reprodutiva da mulher. Dentro deste período de tempo ocorre a menopausa, que representa a cessação permanente dos ciclos menstruais como resultado da perda da atividade folicular ovariana, sendo reconhecida após 12 meses consecutivos de amenorréia, sem causa fisiológica ou patológica. Tomando-se a menopausa como ponto de referência, é possível dividir o climatério nos períodos de pré-menopausa, perimenopausa e pós-menopausa (Fernandes et al, 2007; Weismiller, 2009) (Figura 1).

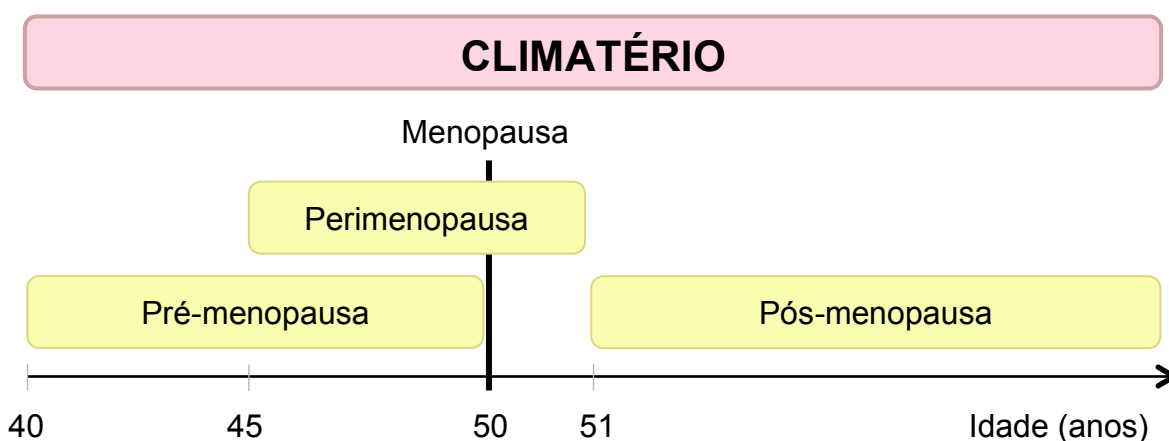


Figura 1. Fases do climatério. Fonte: adaptada de Fernandes et al (2007).

Não há nenhum marcador biológico claro da menopausa, apesar de ser uma fase com grandes alterações nos padrões hormonais. Durante o período da perimenopausa, ocorre aumento considerável nos níveis dos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH), bem como importante redução dos estrógenos. Após a cessação permanente dos ciclos menstruais, ainda há elevação nos níveis de FSH e LH e, por outro lado, a produção dos estrógenos é completamente interrompida (Burger, 1999). Tais alterações, principalmente a depleção dos estrógenos, afetam o organismo como um todo, já que existem receptores presentes em praticamente todos os tecidos, inclusive no sistema cardiovascular (Weismiller, 2009).

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (2008), as doenças cardiovasculares (DCV) representam a principal causa de morte no mundo. Diversos estudos

epidemiológicos apontam que sua incidência aumenta significativamente em mulheres após a menopausa (Simkin-Silverman et al, 1995; Shimbo et al, 2014). Contudo, as razões por este fenômeno ainda não foram totalmente esclarecidas. No que diz respeito ao sistema vascular, o estrogênio é um hormônio ativo em células do músculo liso e em células endoteliais e pode exercer efeito protetor sobre esse sistema. Assim, alguns autores sugerem que esse efeito protetor dos estrogênios é perdido com o advento da menopausa (Schimitt, Cardoso & Aldrighi, 2009; Maric-Bilkan et al, 2014). Entretanto, a escassez hormonal explica parcialmente esta vulnerabilidade, uma vez que a reposição hormonal não previne eventos cardiovasculares nesta população (Shelley et al, 1998; Wassertheil-Smoller et al, 2003).

De acordo com dados da Sociedade Brasileira de Cardiologia juntamente com a Associação Brasileira do Climatério (Fernandes et al, 2008), o infarto e o AVC (Acidente Vascular Cerebral) são as principais causas de morte em mulheres com mais de 50 anos no Brasil. Apesar do risco de câncer de mama ser a principal preocupação das mulheres, sabe-se que a maior incidência de morte nas mulheres se refere às doenças cardiovasculares, um índice de 53% quando comparado aos 4% do câncer de mama, aumentando a prevalência de doenças como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, e principalmente, hipertensão arterial.

2.2) Menopausa e Doenças Cardiovasculares

A deficiência de produção de hormônios após a menopausa causa alterações no organismo como elevação do peso corporal, doenças metabólicas e reduções nas concentrações de estrogênio e progesterona, além do aumento da incidência de hipertensão arterial e DCV (Hurd, 1998; Freitas, 2001; Reckelhoff, 2001).

A prevalência da hipertensão arterial eleva-se significativamente com a idade, chegando a atingir 80% da população acima de 80 anos. Quando se compara esta prevalência entre os gêneros, pode-se observar que a mulheres, até o seu período de menopausa, apresentam menores índices de hipertensão arterial e doenças relacionadas ao coração do que o sexo masculino, fato que ocorre somente até a menopausa. Após esse período, as mulheres passam a ter uma prevalência igualmente à dos homens. Acredita-se que isso ocorra devido à falta de estrogênio, à alteração do perfil lipídico, ao ganho de peso e à inatividade física, e que sejam esses os principais causadores do aumento dos índices de hipertensão arterial em mulheres pós-menopausadas em relação às mulheres prémenopausadas (Reckelhoff, 2001; Coylewright, Reckelhoff & Ouyang, 2008).

Estudos em modelos experimentais de menopausa mostram que a redução nas concentrações séricas de estrogênio estão diretamente relacionadas com a elevação na pressão arterial durante o período da menopausa (Freitas, 2001; Reckelhoff, 2001; Coylewright, Reckelhoff & Ouyang, 2008). Assim, evidências mostram que o estrogênio apresenta importante função no controle cardiovascular através da modulação da função endotelial (Wassertheil-Smoller et al, 2000) ao elevar a produção de óxido nítrico (NO) (Cardoso et al, 2007; Zanesco & Zaros, 2009) por meio de receptores específicos no endotélio vascular e de prostaciclina, que são importantes substâncias vasodilatadoras dependentes do endotélio, como também modula a síntese de endotelina, que é um potente vasoconstritor (Freitas, 2001). Por outro lado, a reposição hormonal em mulheres após a menopausa mostrou-se de baixa eficácia na redução dos valores de pressão arterial, como também na prevenção de eventos cardiovasculares, mostrando que outros fatores podem estar associados a gênese da maior prevalência de DCV e hipertensão arterial em mulheres no climatério (Shelley et al, 1998; Wassertheil-Smoller et al, 2003). Desse modo, métodos alternativos para prevenção e tratamento das DCV, principalmente da hipertensão arterial, são de fundamental importância para essa população.

2.3) Hipertensão Arterial (HA)

A hipertensão arterial sistêmica é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA). Associa-se frequentemente a alterações funcionais, metabólicas e/ou estruturais, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não fatais (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2010). Estima-se que um bilhão de pessoas apresentem HA sistêmica em todo o mundo, sendo responsável por cerca de 7,6 milhões de mortes por ano (Lawes et al, 2008). No Brasil, a HA acomete pouco mais de 30% da população e compromete grande parcela do orçamento público por estar intimamente relacionada às lesões nos principais órgãos-alvo, como coração, cérebro, rins e vasos sanguíneos (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2010).

A prevalência da HA aumenta progressivamente com a idade, sendo superior a 50% entre os idosos. Até os 55 anos de idade, um maior percentual de homens tem HA, dos 55-74 anos o percentual de mulheres é discretamente maior, e acima dos 75 anos, o predomínio no sexo feminino é significativamente superior (American Heart Association, 2010). Assim, cerca de 80% das mulheres, eventualmente, desenvolverão HA na pós menopausa e a incidência de HA aumenta tanto com a idade quanto com o início dessa fase.

Contribuindo com este fato, alguns estudos demonstram que apesar da similaridade no tratamento da HA entre os gêneros, o controle da pressão arterial parece ser menos efetivo nas mulheres (Kim et al, 2006; Keyhani et al, 2008).

Além da redução abrupta do estrogênio, uma variedade de fatores parece contribuir para elevação da pressão arterial (PA) na menopausa, entre eles, o aumento do estresse oxidativo, maior atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), elevação nos níveis plasmáticos de testosterona, alterações no perfil lipídico e o aumento no ganho de peso (Reckelhoff & Fortepiani, 2004; Cardoso et al, 2007). Por outro lado, os estrógenos também podem promover proteção cardiovascular através do controle do SRAA, incluindo redução da expressão dos receptores AT1 em vasos e rins e redução da atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) (Harrison-Bernard, Schulman & Raij, 2003). Reckelhoff & Fortepiani (2004) evidenciaram que mulheres na pós-menopausa apresentam maior atividade plasmática da renina em comparação àquelas que se encontram na pré-menopausa. Em modelos animais, a reposição hormonal (17β -estradiol) em ratas ovariectomizadas reduziu a atividade plasmática da enzima conversora de angiotensina (ECA) bem como os níveis de angiotensina II, potente peptídeo vasoconstritor (Brosnihan et al, 1997). No entanto, a gênese da hipertensão arterial é mais complexa do que àquela observada em modelo experimental de menopausa. Em pesquisas clínicas, a reposição hormonal mostrou-se de baixa eficácia na redução dos valores de PA, como também na prevenção de eventos cardiovasculares, confirmando que os mecanismos envolvidos no controle da PA em mulheres após a menopausa são diferentes daqueles encontrados em modelos experimentais (Manson, 2014; Shimbo et al, 2014).

Estudos da última década, principalmente da Women's Health Initiative, tem mostrado que a terapia de reposição hormonal pode causar câncer de mama, doença arterial coronariana, acidente vascular encefálico, infarto agudo do miocárdio, embolismo pulmonar e trombozes, especialmente em mulheres após alguns anos de menopausa, por isso tem sido indicada somente para mulheres nos primeiros anos de menopausa (Bhupathiraju & Manson, 2014; Manson, 2014). Deve-se enfatizar ainda que a reposição hormonal possui benefícios essencialmente nos sintomas da menopausa em mulheres mais jovens (49 a 59 anos) acometidas por redução de libido, ondas de calor e insônia, mas nenhum benefício ainda foi encontrado para as DCV. Assim, a prática de exercício físico é fundamental nessa fase de vida e o entendimento dos mecanismos pelos quais a sua prática promove efeitos benéficos é essencial para estabelecer diretrizes e recomendações para essa população.

2.4) *L-Arginina e Óxido Nítrico*

As células endoteliais são responsáveis pela síntese, pelo metabolismo e pela liberação de grande variedade de mediadores que regulam o tônus vascular, a permeabilidade vascular, o metabolismo de substâncias endógenas e exógenas, e a atividade plaquetária e leucocitária (Zanesco & Antunes, 2007; Félétou, Köhler & Vanhoutte, 2010; Michel & Vanhoutte, 2010). As substâncias produzidas pelo endotélio podem ser divididas entre agentes vasodilatadores como prostaciclina, óxido nítrico e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e agentes vasoconstritores como endotelinas, prostaglandina, tromboxano e as espécies reativas de oxigênio (EROs). Dentre esta variedade de substâncias, o NO merece atenção especial por ser indispensável em diversos mecanismos fisiológicos.

O NO exerce importante papel na regulação funcional de diversos órgãos no organismo, dependendo do tipo de célula ou tecido, atuando como neurotransmissor em fibras não adrenérgicas e não colinérgicas, no aprendizado e na memória, na plasticidade sináptica e na neuroproteção (Palmer, Ferrige & Moncada, 1987; Böger, 2007). No sistema cardiovascular, o NO produzido pela ação da enzima óxido nítrico sintase é responsável pela regulação e homeostase do tônus vascular, inibição da agregação plaquetária e controle da estrutura vascular. Sendo assim, uma deficiência em sua produção e/ou sua menor biodisponibilidade está diretamente ligada ao desenvolvimento de DCV como aterosclerose, hipertensão arterial e diabetes mellitus (Zanesco & Antunes, 2005; Zanesco & Antunes, 2007). A síntese do NO é dependente de diversos co-fatores e, principalmente, da disponibilidade do aminoácido L-arginina, que é seu substrato (Chin-Dusting, Willems & Kaye, 2007) (Figura 2). A L-arginina é um aminoácido semi-essencial que desempenha várias funções metabólicas no organismo de mamíferos, participando dos processos de transporte e excreção do nitrogênio, síntese de uréia, síntese de proteínas, e como substrato da síntese de creatina e NO (McConnell & Kingwell, 2006).

As fontes de arginina livre são da dieta protéica, sendo que 40% da arginina consumida é metabolizada no intestino antes de atingir a circulação; do turnover de proteínas corporais, o que corresponde a 85% da arginina circulante; e da síntese endógena (Coman, Yapliito-Lee & Boneh, 2008). Apesar de participar de vários processos fisiológicos, a L-arginina tem maior influência no sistema cardiovascular, por meio da produção do NO.

A L-arginina atua como substrato da produção de NO. Enzimas conhecidas como sintases do óxido nítrico (NOS), as quais são divididas em dois grandes grupos: isoformas constitutivas (eNOS: eNOS endotelial e nNOS: nNOS neuronal) e isoforma induzível (iNOS),

são capazes de catalisar a oxidação do nitrogênio terminal do grupamento guanidino da L-arginina, formando NO e L-citrulina (Figura 2) (Murad, 1994; Förstermann, 2010).

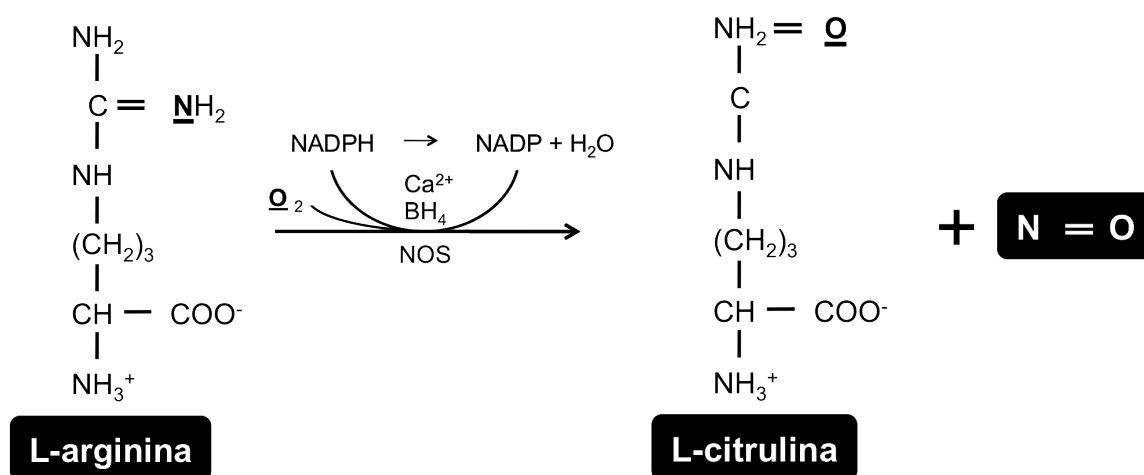


Figura 2. Síntese de óxido nítrico a partir do aminoácido L-arginina. BH₄: Tetrahydrobiopterina; NOS: Óxido nítrico sintase; NADPH: Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo fosfato. Fonte: Puga, Novais & Zanesco, 2011.

Uma vez liberado, o NO difunde-se rapidamente da célula geradora para a célula alvo onde interage com o grupamento heme da guanilato ciclase solúvel (GCs), estimulando sua atividade catalítica e levando à formação do segundo mensageiro guanosina monofosfato cíclico (GMPc), que por sua vez, ativará proteínas quinases (Figura 3). Dentre as proteínas ativadas está a proteína quinase G, que por meio de diferentes vias reduzirá a concentração de íons cálcio (Ca²⁺) da musculatura lisa vascular. Essa redução de Ca²⁺ intracelular promoverá relaxamento da musculatura lisa vascular e conseqüentemente resposta vasodilatadora (Figura 3) (Murad, 1994; Zanesco & Antunes, 2007; Francis et al, 2010).

Os mecanismos pelos quais a via NO/GMPc induz a vasodilatação incluem inibição da geração do inositol-1,4,5-trifosfato (IP₃), aumento do sequestro de Ca²⁺ citosólico, desfosforilação da cadeia leve de miosina, inibição do influxo de Ca²⁺ ATPase de membrana e abertura de canais de potássio (Ignarro et al, 1987; Denninger & Marletta, 1999).

A iNOS é ativada por determinados estímulos patológicos, tais como lipopolissacarídeos bacterianos e citocinas, incluindo a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α). Nesse sentido, trabalhos recentes mostram que o processo de envelhecimento envolve elevação de concentrações de TNF-α, que por sua vez, poderia aumentar a ativação da iNOS, levando ao estresse oxidativo e reduzindo a biodisponibilidade de NO (El Assar, Angulo & Rodríguez-Mañas, 2013).

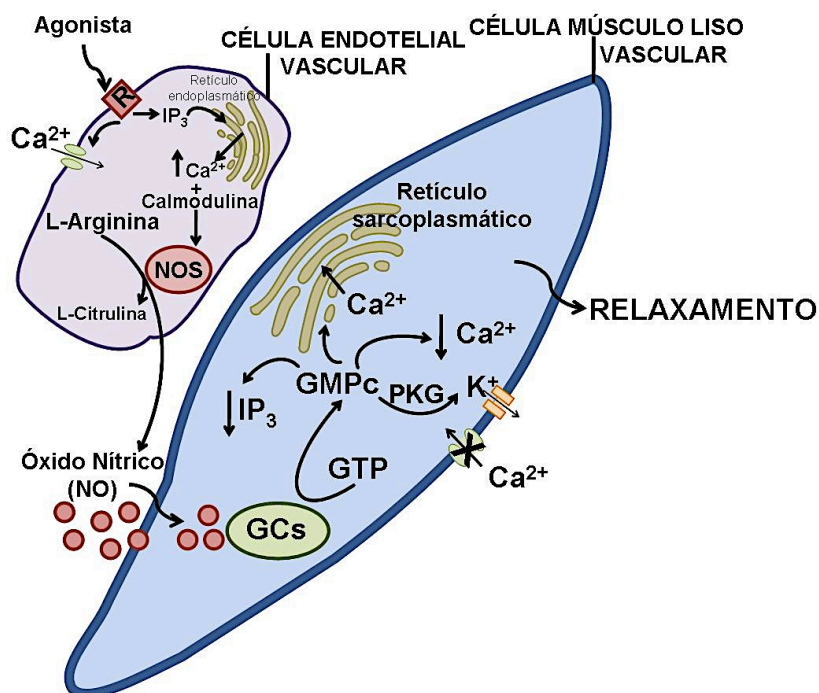


Figura 3. Mecanismo de ação do óxido nítrico e relaxamento do músculo liso vascular. Ca^{2+} : Cálcio; IP_3 : Inositol-1,4,5-trifosfato; GCs: Guanilato ciclase solúvel; GMPc: Guanosina monofosfato cíclico; GTP: Guanosina trifosfato; PKG: Proteína quinase G; NOS: Óxido nítrico sintase; R: Receptor. Fonte: Delbin & Zanesco, 2013.

Ambas, eNOS e nNOS, são estimuladas por via de sinalização (dependente e independente de íons cálcio), que liberam o NO. Requerem um doador de elétron, a nicotinamida adenina nucleotídeo fosfato reduzida (NADPH), como mostra a Figura 4, e cofatores como a flavina adenina dinucleotídeo (FAD), a flavina mononucleotídeo (FMN) e a tetrahydrobiopterina (BH4) (Palmer, Ferrige & Moncada, 1987; Mombouli & Vanhoutte, 1999; Vanhoutte, 2003; Förstermann, 2010). Quando a eNOS é inibida em modelos experimentais usando antagonistas da L-arginina (L-NAME ou similares), há uma redução drástica na formação de NO, levando ao quadro hipertensivo, aumento da adesão e agregação plaquetária e maior oxidação de moléculas de LDL-colesterol, mostrando que o NO possui papel fundamental tanto no sistema cardiovascular como endócrino-metabólico (Palmer, Ferrige & Moncada, 1987; Böger, 2007; Förstermann, 2010).

As células endoteliais são altamente sensíveis aos estímulos químicos e físicos capazes de ativar a eNOS para que ocorra a síntese e liberação de NO. Os estímulos químicos são substâncias agonistas endógenas ou exógenas, que interagem com receptores específicos presentes nas células do endotélio e levam a formação de IP_3 , liberando Ca^{2+} do retículo endoplasmático e formando o complexo cálcio-calmodulina, que irá ativar a NOS para gerar

NO pelo endotélio (Murad, 1994; Zanesco & Antunes, 2007; Francis et al, 2010). O *shear stress*, caracterizado pela força exercida pelo sangue na parede dos vasos, é o estímulo físico mais poderoso para ativar a produção de NO (Palmer, Ferrige & Moncada, 1987; Francis et al, 2010).

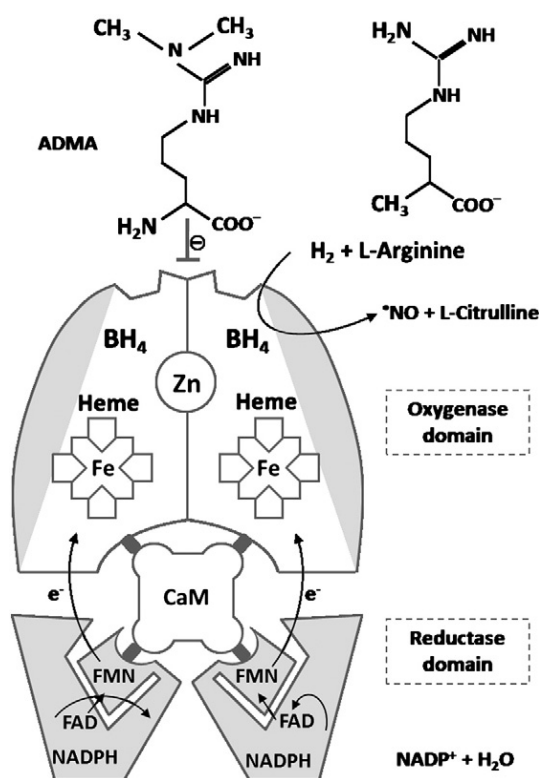


Figura 4. Estrutura molecular da óxido nítrico sintase (NOS). BH₄: Tetrahydrobiopterina; CaM: Calmodulina; FMN: Flavina mononucleotídeo; FAD: Flavina adenina dinucleotídeo; NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida; NO: Óxido nítrico; Zn: Zinco; ADMA: Dimetilarginina assimétrica. Fonte: Rochette et al, 2013.

2.5) Administração de L-arginina e Doenças Cardiometabólicas

O transporte de L-arginina é essencial na regulação da síntese de NO. Em circunstâncias normais, apenas 1,2% do *turnover* de L-arginina plasmática está associada a formação de NO. Embora em pouca quantidade, a L-arginina presente no plasma contribui de forma significativa ($\approx 60\%$) como precursora para a síntese de NO em todo o corpo. As concentrações intracelulares de L-arginina variam entre 0,1 e 0,8 μM em cultura de células endoteliais, enquanto os níveis plasmáticos de L-arginina em humanos variam de 80 a 120 μM , embora níveis tão elevados como 210 μM em condições fisiológicas normais já tenham sido relatados (Wu & Morris, 1998).

Apesar da substancial concentração intracelular, a L-arginina extracelular foi demonstrada por ser fator limitante na taxa de produção de NO. Diversos sistemas de transporte são capazes de mediar o influxo de aminoácidos catiónicos e aniônicos através de membrana plasmática em células de mamíferos. Transportadores de aminoácidos catiónicos (CATs) garantem que a L-arginina requerida pela célula seja atendida através da captação extracelular de L-arginina (Chin-Dusting, Willems & Kaye, 2007).

Além do papel vasodilatador, a L-arginina pode agir como redutora de radicais livres, pelo aumento da biodisponibilidade de NO, exercendo papel importante em indivíduos hipertensos e com doenças cardiovasculares, em que tem se observado maiores níveis de espécies reativas de oxigênio por meio de avaliação do status redox nesses pacientes (Hambrecht et al, 2000; Kawano et al, 2003). Evidências mostram também que a L-arginina participa na secreção dos hormônios de crescimento e insulina, eleva o metabolismo energético e diminui a concentração plasmática dos triglicerídeos (Steiner et al, 1984; Kawano et al, 2003).

Baseado na relação entre a L-arginina e a produção de NO, diversos estudos verificaram os efeitos da administração ou infusão exógena de L-arginina no sistema cardiovascular em indivíduos portadores de doenças crônico-degenerativas e saudáveis, visando principalmente melhora na função endotelial desses indivíduos (Gokce, 2004; Böger, 2007; Lucotti et al, 2009; Puga, Novais & Zanescio, 2011). Os resultados dos estudos existentes na literatura ainda não são unânimes e nem conclusivos sobre os efeitos benéficos do uso da L-arginina para todas as populações. Os efeitos benéficos são mais encontrados em indivíduos com algum comprometimento no sistema cardiovascular e/ou algumas doenças endócrino-metabólicas crônicas, como a disfunção endotelial. Além disso, a diversidade das populações estudadas, assim como a diferença entre as intervenções, tanto nas dosagens e tempo de intervenção, quanto na qualidade do controle dos testes clínicos, comprometem conclusões mais precisas.

2.6) Disfunção Endotelial e Estresse Oxidativo

O óxido nítrico é o elemento essencial para manter o endotélio vascular íntegro, visto que o endotélio possui papel fundamental no controle do tônus vascular (Schnabel et al, 2005). O NO possui importantes funções cardioprotetoras, atuando na inibição da agregação plaquetária e leucocitária, proliferação celular, além de possuir um potente efeito vasodilatador (Zago & Zanescio, 2006). Nesse sentido, a disfunção endotelial basicamente

caracteriza-se pela redução da produção e/ou biodisponibilidade de NO, que resulta em uma menor vasodilatação dependente do endotélio e favorece o desenvolvimento das doenças crônico-degenerativas, como a hipertensão arterial (Higashi et al, 2009).

O estresse oxidativo, caracterizado pelo aumento na produção e/ou acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ocasionado pelo desequilíbrio entre os sistemas oxidante e antioxidante, é determinante para a redução da biodisponibilidade do NO no leito vascular e consequente processo de disfunção endotelial (Sydow & Münzel, 2003; Higashi et al, 2009).

As EROs são moléculas produzidas por fatores endógenos ou exógenos ao nosso organismo possuem elétrons desapareado em sua última camada, sendo eletricamente instáveis e consideradas substâncias lesivas à outras estruturas, como células e tecidos saudáveis em nosso organismo. Em situações patológicas, agentes patogênicos ou até mesmo células e tecidos do nosso organismo começam a produzir EROs em excesso. Estas, em grande quantidade, podem causar lesões celulares e teciduais levando à morte ou disfunção dessas estruturas fisiológicas (Ferreira & Matsubara, 1997; Finkel & Holbrook, 2000). As principais espécies reativas de oxigênio são o radical hidroxila (OH^\cdot), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxinitrito (ONOO^\cdot) e ânion superóxido (O_2^\cdot). Elas são produzidas naturalmente em processos metabólicos no organismo e em condições normais possuem importância fisiológica, contudo quando em excesso são prejudiciais. Algumas das principais fontes de EROs são as enzimas NADPH oxidase, xantina oxidase, eNOS desacoplada e a mitocôndria, e a maioria dessas fontes estão aceleradas em pacientes com doenças cardiovasculares (Cai & Harrison, 2000; Lakshmi et al, 2009; Gomes, Silva & de Oliveira, 2012).

Para combater essas lesões ou danos causados pelas EROs, nosso organismo possui sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático, que combate esses agentes lesivos ao nosso organismo e também auxiliam na reparação celular ou tecidual. A defesa antioxidante não enzimática é proveniente principalmente da dieta e a defesa enzimática é realizada por meio de enzimas antioxidantes no nosso organismo, como a superóxido dismutase (SOD), catalase e a glutathione peroxidase (GPx). Nesse sentido, o estresse oxidativo, com produção de EROs acima da capacidade do sistema antioxidante deter a produção e ação deletéria dessas moléculas, pode ocasionar lesões celulares (Figura 5). A longo prazo esse estresse oxidativo está relacionado ao desenvolvimento de várias doenças crônicas, principalmente cardiovasculares (Cai & Harrison, 2000; Lakshmi et al, 2009; Gomes, Silva & de Oliveira, 2012).

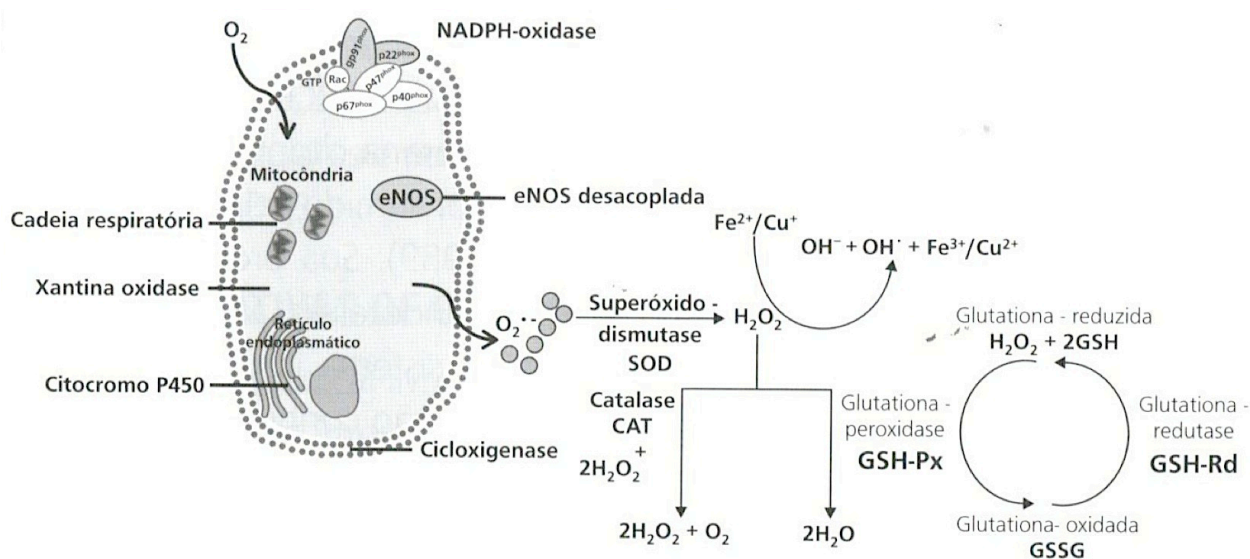


Figura 5. Sistema oxidante e antioxidante. O_2^- : Ânion superóxido; OH^- : Íon hidroxila; O_2 : oxigênio; eNOS: Óxido nítrico sintase, H_2O_2 : Peróxido de hidrogênio; OH^\cdot : Radical hidroxila. Fonte: Delbin & Zanescio, 2013.

A menopausa é uma condição favorável para aumento do estresse oxidativo. A atividade aumentada do SRAA nesta população não só tem implicação direta na hemodinâmica, como pode influenciar negativamente o estado redox. Alguns autores evidenciaram níveis aumentados de endotelina em mulheres na pós-menopausa, que além de ser um potente vasoconstritor, também pode estimular componentes do sistema oxidante (Reckelhoff & Fortepiani, 2004; Maric-Bilkan, Gilbert & Ryan, 2014). Por outro lado, sabe-se que o estradiol é capaz de estimular diretamente a produção de NO, ativando ou aumentando a expressão da enzima eNOS, o que favorece para melhor controle da pressão arterial bem como inibe possíveis efeitos aterogênicos no período pré-menopausa. Nesse sentido, outros estudos também demonstraram que o hormônio feminino é capaz de regular positivamente a enzima antioxidante SOD, reduzindo assim a inativação do NO (Fisman, Tenenbaum & Pines, 2002; Lima, Wofford & Reckelhoff, 2012). De fato, alguns autores encontraram níveis aumentados de marcadores do estresse oxidativo nesta população em comparação à mulheres jovens (Signorelli et al, 2006). Dessa forma, o aumento do estresse oxidativo e consequente disfunção endotelial são considerados importantes fatores que podem contribuir para maior risco de desenvolver DCV em mulheres na pós-menopausa (Moreau et al, 2013).

Pacientes com doenças cardiovasculares e endócrino metabólicas possuem falha na produção de fatores relaxantes derivados do endotélio, principalmente do NO,

apresentando disfunção endotelial e falha na função cardioprotetora dessas substâncias (Cai & Harrison, 2000; Förstermann, 2010). A redução da biodisponibilidade do NO pelo endotélio ocorre principalmente devido à interação do ânion superóxido (O_2^-) com o NO, produzindo o peroxinitrito. A produção desta ERO reduz a atividade da eNOS em produzir o NO e aumenta mais ainda a produção de O_2^- por meio da eNOS desacoplada, que nada mais é do que a desconformação da eNOS, que passa a produzir mais O_2^- ao invés do NO (Cai & Harrison, 2000; Förstermann, 2010). Assim, a queda da biodisponibilidade do NO causada pelo aumento da produção de EROs e diminuição da atividade antioxidante é considerada a principal causa da disfunção no endotélio vascular e essa disfunção está associada ao desenvolvimento da hipertensão arterial, aterosclerose, doença arterial coronariana e vários outros eventos cardiovasculares (Cai & Harrison, 2000; Lakshmi et al, 2009; Förstermann, 2010; Gomes, Silva & de Oliveira, 2012). Além disso, a diminuição da biodisponibilidade de NO em pacientes com disfunção endotelial pode estar relacionada à vários fatores, como aumento do ADMA (inibidor endógeno da eNOS), diminuição da expressão da eNOS, falta de cofatores para formação de NO pela eNOS e também pela diminuição da L-arginina, que é o substrato para a formação de NO (Cai & Harrison, 2000).

Alguns estudos em modelos animais mostraram que a administração e/ou infusão de L-arginina pode melhorar a função endotelial por diminuir os marcadores do estresse oxidativo e aumentar a biodisponibilidade do NO nos vasos (El-Missiry, Othman & Amer, 2004; Tsai et al, 2009). Porém, os resultados em humanos ainda são controversos. Um estudo realizado em homens adultos hipercolesterolêmicos mostrou que a infusão de L-arginina melhorou a função endotelial e os marcadores de estresse oxidativo (Kawano et al, 2002). Já Fayh *et al* (2013) não encontraram diferença nos marcadores do estresse oxidativo após a suplementação de L-arginina em jovens diabéticos, mesmo com a melhora da função endotelial derivada do NO. A literatura carece de mais estudos em humanos que investiguem os efeitos da administração de L-arginina, que poderia causar aumento da biodisponibilidade de NO nas respostas antioxidantes e marcadores do estresse oxidativo, principalmente em pacientes com disfunção endotelial.

O exercício físico exerce também papel importante no sistema antioxidante, auxiliando no combate ao estresse oxidativo (Fukai et al, 2000; Lucotti et al, 2009). Agudamente, o exercício físico aumenta o estresse oxidativo porque o aumento do consumo de oxigênio, o trabalho muscular, a liberação de hormônios como catecolaminas, o aumento da isquemia reperusão, a aceleração do metabolismo e da ação enzimática são alguns dos fatores que aceleram a produção de EROs e consequente estresse oxidativo pelo exercício

físico (Gomes, Silva & de Oliveira, 2012). Porém, apesar do exercício estimular o estresse oxidativo, ele também ativa mecanismos sinalizadores para o aumento de enzimas antioxidantes e melhora no sistema antiinflamatório, além do aumento do *shear stress* e produção de NO pelo endotélio de forma aguda (Finkel & Holbrook, 2000; Fukai et al, 2000; Gomes, Silva & de Oliveira, 2012). Segundo Finkel & Holbrook (2000), a estratégia mais eficiente para aumentar a quantidade endógena de substâncias antioxidantes pode ser a maior indução do próprio estresse oxidativo, que estimularia os mecanismos antioxidantes celulares aumentando a resistência às lesões induzidas pelo exercício físico ou por EROs, produzidas por outros mecanismos tanto fisiológicos como patológicos (Förstermann, 2010; Gomes, Silva & de Oliveira, 2012).

Alguns trabalhos mostraram que a associação do exercício físico e a suplementação de L-arginina parece também ser eficaz e importante na regulação e diminuição de marcadores oxidantes e inflamatórios, bem como exercer ações antiaterogênicas e de proteção cardiovascular (Lucotti et al, 2009). Essa relação entre a produção de espécies reativas, que promovem efeitos deletérios, e a possível proteção antioxidante que o exercício e a administração de L-arginina podem proporcionar, ainda carece de estudos mais bem controlados. Nenhum estudo avaliou as respostas dessas intervenções conjuntas nas respostas agudas em populações com a função endotelial comprometida. Nós acreditamos que o aumento da produção de NO pelo exercício, aliado ao aumento do substrato para a formação do NO, a L-arginina, poderia também trazer melhoras no sistema antioxidante e reduzir a produção e/ou ação das EROs produzidas pelo exercício e também pelo estado inflamatório e patológico de pacientes com disfunção endotelial.

2.7) Menopausa e Andrógenos

O papel dos andrógenos nas doenças cardiovasculares tem sido estudados em modelos animais e em seres humanos. No entanto, não há ainda conclusões claras sobre o papel dos andrógenos nas DCV, principalmente durante o climatério. Um trabalho mostrou positiva relação entre a concentração sérica de andrógenos e risco de DCV em 344 mulheres entre 65 e 98 anos de idade, demonstrando que altos níveis de testosterona total acarretava 3 vezes maior risco de DCV (Patel et al, 2009). Por outro lado, outros estudos falharam em verificar essa associação (Delbin et al, 2007; Golden et al, 2007).

Além disso, trabalho avaliando a resposta relaxante mediada por fluxo em 60 mulheres após a menopausa observou que as voluntárias que tinham maiores concentrações

sélicas de testosterona apresentaram melhores respostas relaxantes, mostrando efeitos benéficos dos andrógenos na função endotelial (Montalcini et al, 2007). Assim, maiores estudos precisam ser feitos em diferentes populações para que possamos ter resultados mais conclusivos. Com relação à exercício físico, nenhum estudo avaliou essa interação entre níveis séricos de testosterona e climatério.

2.8) Menopausa e Cortisol

O cortisol é um hormônio esteróide secretado pelo córtex da glândula adrenal por meio da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Ingle, 1952). Esse glicocorticóide possui diversas ações no organismo, atuando em processos inflamatórios e no metabolismo de carboidratos e lipídeos (Ingle, 1952). Além dessas ações, trabalhos a partir da década de 90 mostraram que a administração de cortisol leva ao estado hipertensivo em modelos experimentais e em humanos, porém os mecanismos através dos quais o cortisol atua como mediador da hipertensão arterial ainda não foram completamente esclarecidos (Whitworth, Mangos & Kelly, 2000).

Alguns trabalhos mostraram que a exposição crônica a níveis elevados deste hormônio frequentemente implica em um aumento nos níveis de pressão arterial e também no risco cardiovascular (Williamson et al, 2005; Valassi et al, 2012). Além da ativação simpática, do SRAA e também dos receptores mineralocorticóides, alguns autores sugerem que a hipertensão induzida pelo cortisol seria através da redução na biodisponibilidade de NO e aumento do estresse oxidativo, tanto em animais de laboratório (Turner et al, 1996; Wallerath et al, 1999) como em humanos (Kelly et al, 1998; Whitworth, Mangos & Kelly, 2000; Lou et al, 2001). Por outro lado, trabalhos prévios falharam em mostrar direta associação entre a hipertensão induzida pelo cortisol e a via do sistema L-arginina/NO/GMPc em homens (Kelly et al, 2001; Chin-Dusting et al, 2003). Além disso, estudo recente destacou que o cortisol participa de forma significativa na relação existente entre obesidade e hipertensão arterial, e sugere que a gênese da síndrome metabólica envolve exposição prolongada e excessiva ao glicocorticóide (Varughese, Nimkevych & Uwaifo, 2014). Assim, o papel do cortisol no controle da pressão arterial ainda é controverso.

Por outro lado, algumas evidências sugerem o aumento na secreção de cortisol em relação à idade em ambos os gêneros (Van Cauter, Leproult & Kupfer, 1996; Yen & Laughlin, 1998). Nesse sentido, trabalho prévio mostrou que mulheres após a menopausa apresentam níveis de cortisol mais altos do que mulheres jovens e homens de mesma idade

(Van Cauter, Leproult & Kupfer, 1996). No entanto, um trabalho recente não mostrou diferenças nas concentrações de cortisol entre mulheres na pré e na pós menopausa (McInnes et al, 2012), por isso, mais estudos sobre o assunto são necessários. Além disso, verificou-se que frente a um estímulo estressor, as mulheres na pós-menopausa apresentaram maior resposta deste eixo em relação ao sexo oposto, resposta contrária àquela observada quando analisados indivíduos jovens (Seeman et al, 2001). As razões para o dimorfismo sexual ainda não é clara e alguns estudos tem avaliado a interação entre os hormônios ovarianos e a função do córtex adrenal, mostrando que essa interação estrógenos/andrógenos/cortisol possa ter papel relevante nas funções cárdio-metabólicas de mulheres após a menopausa (McConnell et al, 2012; Saxena & Seely, 2012). Desse modo, níveis aumentados de cortisol poderia representar uma possível relação com maior risco para desenvolver DCV após a menopausa (Cagnacci et al, 2011).

2.9) Exercício Físico

Já está bem descrito na literatura que o exercício físico aeróbio realizado regularmente e em intensidades moderadas é uma estratégia importante na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, em especial na regulação da pressão arterial. Estima-se que a inatividade física seja responsável por aproximadamente 6-10% das principais doenças crônico-degenerativas em todo o mundo (Lee et al, 2012) e por isso sua prática tem sido recomendada na prevenção e/ou tratamento da hipertensão arterial (Pescatello et al, 2004; Roque et al, 2013). Os efeitos benéficos da prática de exercícios físicos estão relacionados tanto à prática regular (efeitos crônicos) quanto aos seus efeitos agudos (Forjaz et al, 2000; MacDonald, 2002; Anunciação & Polito, 2011).

Desde o final do século 19 e início do século 20, autores já demonstraram que a pressão arterial é reduzida após algum trabalho muscular para abaixo dos valores anteriores de repouso (Hill, 1897; Bowen, 1904). No entanto, foi apenas a partir do final do século 20 que especialistas focaram na relevância clínica desse fenômeno. Vários estudos foram realizados para uma melhor compreensão dos fatores que interferem nessa redução da pressão arterial após a realização de exercícios físicos e nos mecanismos envolvidos em tal fenômeno (Fitzgerald, 1981; MacDonald, 2002; Anunciação & Polito, 2011; Halliwill et al, 2013). Esses mecanismos de redução/regulação da pressão arterial após a realização do exercício físico são melhores evidenciados em indivíduos hipertensos. Porém, eles também ocorrem em indivíduos normotensos e saudáveis, de ambos os gêneros, contribuindo para a prevenção de

eventos cardiovasculares futuros, como infarto do miocárdio e doença arterial coronariana (MacDonald, 2002; Chen & Bonhan, 2010; Anunciação & Polito, 2011).

A redução da pressão arterial após o exercício aeróbio inicia-se imediatamente no primeiro minuto e pode estender-se por algumas horas após a sua execução, como demonstrado em vários estudos (Bronw et al, 1994; MacDonald et al, 1999; MacDonald, 2002; Anunciação & Polito, 2011). Devido a dificuldade de mensuração e controle das atividades de vida diária dos indivíduos avaliados, a maioria dos estudos monitoram a pressão arterial nas primeiras horas após a realização do exercício. No entanto, evidências demonstraram que a redução da pressão arterial pode prolongar-se por até 24 horas após sua execução (Forjaz et al, 2000; MacDonald et al, 2001; Ciolac et al, 2009).

O exercício físico é capaz de aumentar o fluxo sanguíneo pulsátil e a pressão que o sangue exerce sobre a parede dos vasos, chamado de *shear stress* ou força de cisalhamento que, por sua vez, é um importante estímulo para aumentar a síntese de NO bem com favorecer sua biodisponibilidade no sistema vascular (Zanesco & Antunes, 2007; Zanesco & Zaros, 2009). Dessa forma, os benefícios causados pelo *shear stress* provocado pelo exercício estão relacionados principalmente à maior ativação e/ou expressão da enzima eNOS nas células endoteliais, bem como ao aumento da atividade e/ou expressão das enzimas antioxidantes SOD, catalase e GPx e redução da atividade e/ou expressão das enzimas oxidantes, especialmente a NADPH oxidase. Assim, esses estímulos favorecem a ação do NO na musculatura lisa vascular, reduzem o estresse oxidativo e conseqüentemente favorecem o controle da pressão arterial (Walther, Gielen & Hambrecht, 2004; Lizardo et al, 2008; Lee et al, 2009).

Estudos que utilizaram ratos espontaneamente hipertensos mostraram que após a realização de exercícios físicos há aumento da fosforilação eNOS, com maior produção e ação do NO após o exercício, exercendo assim um papel importante na redução da PA (Lizardo et al, 2008; Lee et al, 2009). Além disso, Rao, Collins & DiCarlo (2002) demonstraram que após a realização de exercício aeróbio há diminuição da resposta contrátil mediada pelos receptores alfa adrenérgicos, mediada pelo NO, contribuindo para a redução da PA após a realização do exercício físico. Contudo, esse efeito não foi observado em ratas, apenas em ratos. Em contrapartida, os resultados em humanos não corroboram com os dados em modelos animais. Mesmo sendo demonstrado que o NO aumenta sua concentração após a realização do exercício físico aeróbio (Jungersten et al, 1997), Halliwill, Minson & Joyner (2000) mostraram que a PA, após a realização de exercício aeróbio, reduz mesmo quando infundido

L-NMMA, um inibidor da eNOS, em jovens saudáveis, sugerindo que a queda da PA após o exercício não é dependente do aumento da produção de NO pelo endotélio.

Assim, apesar da ação vasodilatadora do NO mediado pelo exercício estar bem descrito na literatura, a contribuição do NO na redução da pressão arterial após uma sessão de exercício aeróbio e se indivíduos treinados possuem melhor resposta frente ao estímulo agudo não está bem clara. Alguns estudos sugerem que o aumento da biodisponibilidade de NO através da administração de seu precursor, a L-arginina, poderia contribuir no aumento do fluxo sanguíneo e na diminuição da resistência periférica (Gokce, 2004; Böger, 2007; Lucotti et al, 2009; Puga, Novais & Zanesco, 2011), auxiliando, assim, no controle da pressão arterial e trazendo efeitos positivos na redução da PA após o exercício físico aeróbio. Apesar do crescente interesse em estudar o período pós-menopausa, poucos estudos até o momento se preocuparam em avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a via NO/GMPc frente à um estímulo agudo e a existência de possíveis diferenças no padrão de resposta em normotensas e hipertensas. Assim, seria interessante e de grande relevância investigar as vias de sinalização envolvidas nos efeitos benéficos do exercício físico sobre a pressão arterial em mulheres após a menopausa, comparando normotensas e hipertensas, além de verificar se a administração com L-arginina poderia incrementar o efeito benéfico do exercício físico no sistema cardiovascular. Esse estudo possui grande importância clínica, pois o entendimento dos mecanismos pelos quais o exercício físico promove redução de pressão arterial nessa população propiciará melhores estratégias para a prevenção e/ou tratamento das doenças cardiovasculares e suas complicações, visto que essa população possui maior expectativa de vida do que os homens e a prevalência de hipertensão arterial eleva-se nessa fase.

3. HIPÓTESE

Este trabalho tem por hipótese que a administração aguda do aminoácido L-arginina, molécula precursora para a síntese de óxido nítrico (NO), associada à uma sessão aguda de exercício físico aeróbio, promove melhor resposta hemodinâmica em mulheres normotensas e hipertensas após a menopausa, quando comparada ao exercício físico aeróbio agudo ou administração de L-arginina isolados. Além disso, espera-se que o treinamento físico possa modificar positivamente a resposta dos parâmetros avaliados frente ao estímulo com os desafios agudos experimentais. Esse estudo também procurou buscar a compreensão dos mecanismos envolvidos na gênese da hipertensão arterial em mulheres após a menopausa avaliando os mediadores cardio-metabólicos e as respostas hemodinâmicas antes e após a intervenção.

Esse estudo possui grande relevância na área de saúde e de fisiologia cardiovascular, uma vez que evidências mostram que as mulheres vivem cerca de oito anos mais que os homens. Além disso, a incidência de hipertensão arterial aumenta em mulheres após a menopausa quando comparadas às mulheres na pré-menopausa. Portanto, medidas preventivas e/ou de controle das doenças cardiovasculares são de grande relevância na área de saúde pública, tanto no que se refere à melhora na qualidade de vida quanto nos gastos com medicamentos e sistema de atendimento à saúde dessa população. Estudos com administração de suplementos dietéticos relacionados ao vasodilatador óxido nítrico tem merecido grande atenção na área de fisiologia cardiovascular em diferentes estados patológicos. Adicionalmente, os efeitos benéficos do exercício físico sobre o sistema cardiovascular tem sido exaustivamente documentados. No entanto, não há trabalhos avaliando a interação entre a administração de L-arginina associada ao exercício físico em mulheres no climatério e verificando as possíveis diferenças entre normotensas e hipertensas.

4. OBJETIVOS

4.1) *Objetivo Geral*

Avaliar os efeitos crônicos e agudos do exercício físico aeróbio, bem como da exposição aguda à L-arginina, sobre as respostas cardiovasculares e os biomarcadores endócrino-metabólicos em mulheres normotensas e hipertensas após a menopausa.

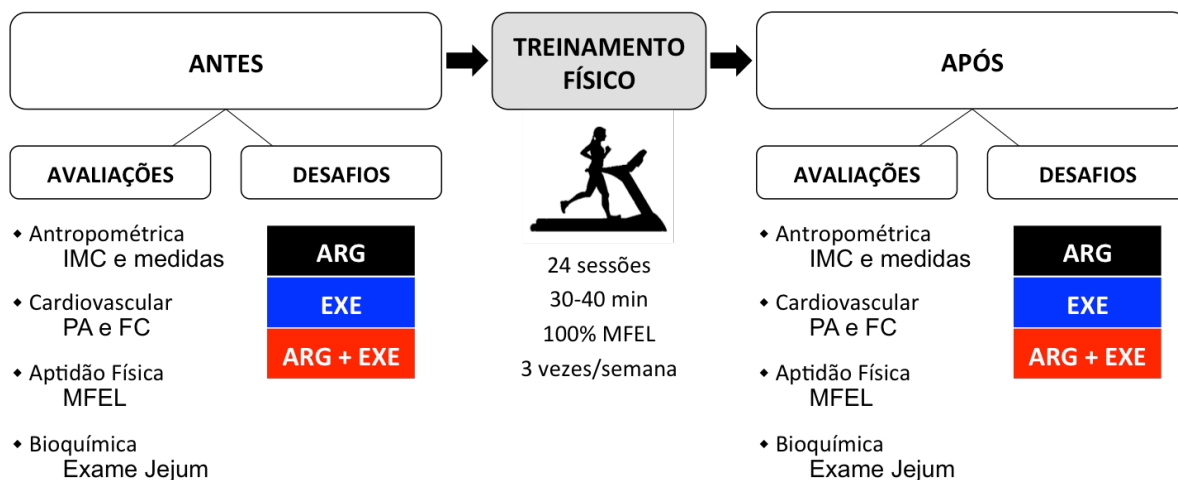
4.2) *Objetivos Específicos*

1. Avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre os parâmetros antropométricos, cardiovasculares e bioquímicos/hormonais em mulheres normotensas e hipertensas após a menopausa.

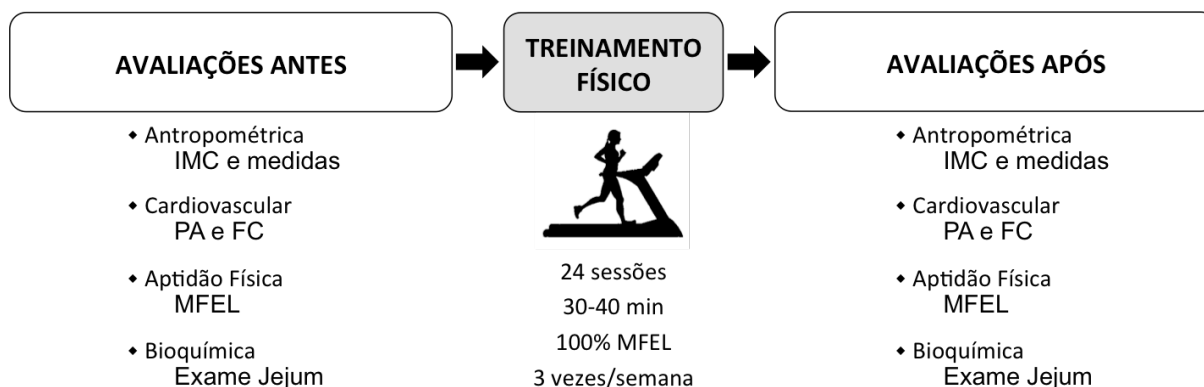
2. Avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre as respostas cardiovasculares e endócrino-metabólicas frente à exposição aguda com exercício físico aeróbio e administração de L-arginina em mulheres normotensas e hipertensas após a menopausa.

Dessa forma, os dados a serem apresentados foram divididos em dois momentos distintos, designados por Estudo 1 e Estudo 2, no intuito de facilitar o entendimento dos procedimentos realizados e para melhor aproveitamento dos resultados obtidos. A figura 6 apresenta o delineamento de todo o projeto, bem como da divisão dos estudos.

* Delineamento experimental do projeto



* Estudo 1



* Estudo 2

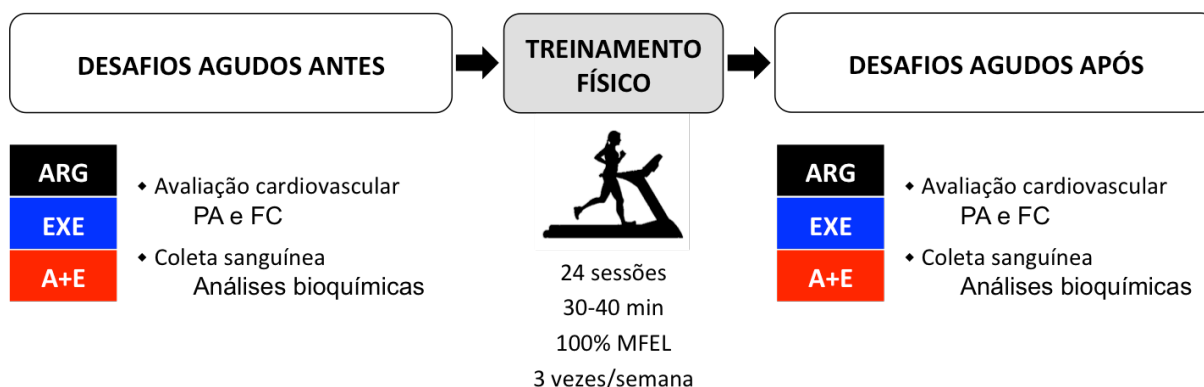


Figura 6. Delineamento experimental dos Estudos apresentados. IMC: Índice de massa corporal; PA: Pressão arterial; FC: Frequência cardíaca; MFEL: Máxima fase estável de lactato; ARG: Arginina; EXE: Exercício; A+E: Arginina e exercício.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1) Participantes

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP (Protocolo nº 4395). As participantes desse estudo foram recrutadas através do banco de dados do laboratório, da divulgação do projeto pela mídia impressa e televisiva, rádio, panfletos e anúncios dentro da comunidade universitária e de áreas circunvizinhas à UNESP, bem como na cidade e região de Rio Claro.

5.2) Critérios de Inclusão e Exclusão

Para serem incluídas no estudo, as participantes deveriam: a) ser do sexo feminino; b) estar na pós-menopausa; c) apresentar Hipertensão Arterial, segundo as IV Diretrizes da Sociedade Brasileira de Hipertensão (2010), para grupo de hipertensas.

Os critérios de exclusão foram: 2) fazer uso de Terapia de Reposição Hormonal; b) índice glicêmico de jejum > 100 mg/dL; c) apresentar problemas renais; d) ser fumante; e) apresentar qualquer condição que impedisse a prática de exercícios físicos.

Após a seleção, as voluntárias foram convidadas a comparecerem ao Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Atividade Física para a explicação completa do estudo pela pesquisadora responsável. De acordo com as normas do CONCEP CNS 196/96, um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os participantes após terem sido fornecidas as informações dos procedimentos do estudo, de seus riscos e benefícios e esclarecimentos das dúvidas existentes.

5.3) Caracterização do Quadro Hipertensivo

As voluntárias do grupo hipertenso foram classificadas como HT segundo diagnóstico previamente realizado pelo médico do paciente e de acordo com a atual Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (2010).

5.4) Procedimentos

O estudo consistiu em aproximadamente sete visitas iniciais ao Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Atividade Física – UNESP Rio Claro, que incluíram as avaliações antropométrica, cardiovascular, familiarização ao ergômetro utilizado, seguido de 3 a 5 sessões para avaliação da aptidão aeróbia, exame sanguíneo de jejum e, por fim, um desafio agudo experimental. Após esses procedimentos, foi dado início ao treinamento físico aeróbio em esteira ergométrica, composto por 8 semanas. Após o treinamento físico, foi realizada uma reavaliação dos parâmetros analisados inicialmente. A figura 7 apresenta como foi a sequência de realização de todos os procedimentos executados com as voluntárias normotensas e hipertensas.

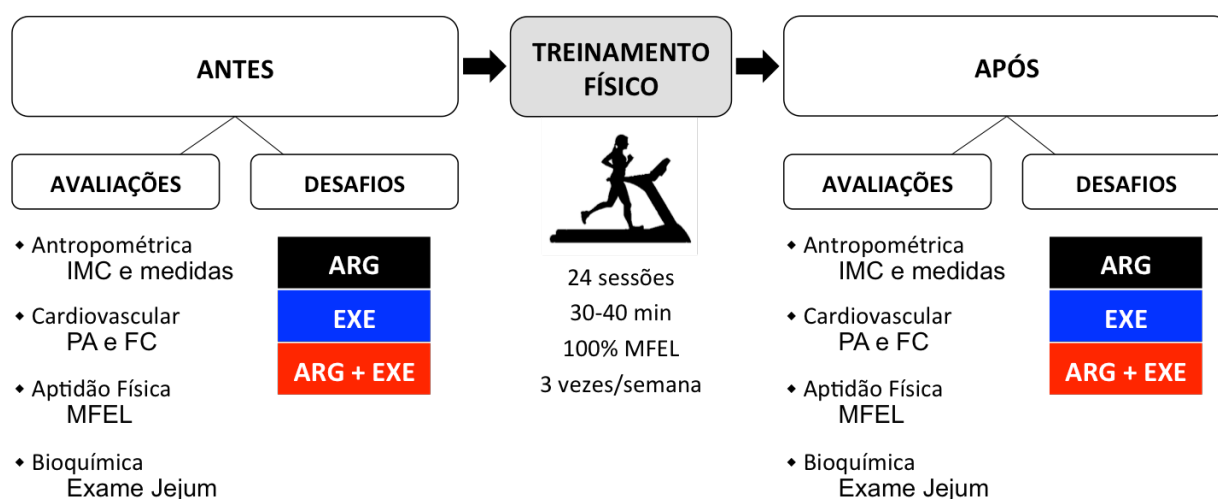


Figura 7. Delineamento experimental. IMC: Índice de massa corporal; PA: Pressão arterial; FC: Frequência cardíaca; MFEL: Máxima fase estável de lactato; ARG: Arginina; EXE: Exercício.

5.5) Parâmetros Antropométricos

A massa corporal foi mensurada em balança digital (Toledo® 2096 PP) com a voluntária vestindo o mínimo possível de roupa e descalça. A estatura foi mensurada com estadiômetro da própria balança, isenta de rodapés ou irregularidades. A voluntária permaneceu ereta e com os olhos fixos num eixo horizontal paralelo ao chão. O índice de massa corporal (IMC) foi determinado pela razão massa corporal/altura². As medidas de circunferência de cintura, quadril e abdominal foram realizadas utilizando fita métrica com

precisão em milímetros e feitas sempre pelo mesmo avaliador (Callaway et al, 1988; Heyward & Stolarczyk, 2000). A circunferência abdominal correspondeu a maior medida, normalmente situada no nível da cicatriz umbilical. A circunferência de cintura foi medida no ponto médio entre a última costela e a crista íliaca. A circunferência de quadril, por sua vez, foi medida no ponto de maior circunferência da região glútea. A relação cintura-quadril (RCQ) foi obtida através da razão entre cintura e quadril. Todas as medidas foram feitas por um profissional de Educação Física altamente experiente e habilitado com os procedimentos.

5.6) *Parâmetros Cardiovasculares de Repouso*

Para medida da pressão arterial de repouso, foram seguidos os procedimentos recomendados pela IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (2010). Após permanecerem 20 minutos em repouso na posição sentada e em ambiente calmo, foram realizadas três medidas consecutivas da pressão arterial no braço esquerdo utilizando o aparelho de pressão semiautomático, devidamente calibrado, da marca Microlife® modelo BP 3BT0A, que opera por meio do método oscilométrico. Em caso de variações superiores a 10 mmHg entre as medidas, uma nova medição era realizada e o valor discrepante descartado. Considerou-se a média das três medidas como a PA de repouso.

Para avaliação da frequência cardíaca de repouso os mesmos procedimentos foram realizados utilizando um frequencímetro da marca Polar® modelo FT1 TRQ. Ao final do repouso, o valor da FC foi anotado.

5.7) *Avaliação da Aptidão Aeróbia*

Previamente ao início da avaliação da aptidão aeróbia, as voluntárias foram familiarizadas (2-4 sessões) com a esteira ergométrica que seria utilizada durante o estudo (Movement® RT 250 PRO). Além disso, a escala de percepção subjetiva de esforço (Borg, 1998) foi apresentada (Tabela 1).

Após a familiarização no ergômetro, as voluntárias iniciaram o protocolo de testes para aptidão aeróbia por meio da avaliação da máxima fase estável de lactato sanguíneo (MFEL), de acordo com Beneke & Von Duvillard (1996). Foram realizados no mínimo dois e no máximo cinco testes, em dias não consecutivos.

A MFEL pode ser definida como a maior intensidade de esforço em que se observa um equilíbrio entre a produção e a remoção do lactato sanguíneo, sendo essa

condição normalmente associada à capacidade do indivíduo de sustentar um exercício contínuo por períodos prolongados de tempo (Beneke, Hütler & Leithäuser, 2000).

O protocolo para determinação da MFEL foi constituído de cargas constantes (inclinação da esteira com variação entre 2 e 11%), velocidade fixa em 5,5 km/h e duração máxima de 30 minutos, com coletas sanguíneas para medição do lactato realizadas no repouso e no 10º e 30º minutos do exercício (Beneke, 2003). A caracterização da MFEL corresponde à máxima intensidade em que o aumento na concentração de lactato não supera 1 mmol/L entre o 10º e 30º minutos do teste, ou seja, há um equilíbrio entre a produção e remoção do lactato. Os testes foram realizados em dias não consecutivos com intensidades diferentes a cada dia.

Tabela 1. Escala de percepção subjetiva de esforço (PSE).

Escala de percepção subjetiva de esforço (BORG E NOBLE, 1974)	
6	Sem nenhum esforço
7	Muito fácil
8	
9	Fácil
10	
11	Relativamente fácil
12	
13	Ligeiramente cansativo
14	
15	Cansativo
16	
17	Muito cansativo
18	
19	Exaustivo
20	Esforço máximo

Após assepsia do local com álcool, as amostras de sangue foram coletadas no lóbulo da orelha utilizando luvas de procedimento e lanceta descartável. A primeira gota de sangue foi desprezada, evitando contaminação da amostra com suor, e em seguida foram coletados 25µl de sangue, por meio de capilares de vidro descartáveis heparinizados e previamente calibrados. O conteúdo foi armazenado a 4º C em tubos de 1,5 mL contendo 400µl de ácido tricloroacético (TCA). Foi realizada análise da concentração de lactato sanguíneo através do método colorimétrico, conforme descrito por Engel & Jones (1978).

5.8) Coleta Sanguínea em Jejum

Após jejum noturno de 12 horas, as amostras de sangue foram obtidas da veia antecubital (em torno de 15 ml), por meio de técnica asséptica com material de punção venosa descartável. Este procedimento foi realizado por um profissional altamente experiente e habilitado entre 7:00 e 7:30 horas da manhã em um laboratório de análises clínicas conveniado na cidade de Rio Claro. As amostras de sangue foram depositadas em tubos específicos, contendo EDTA (para obtenção do plasma) e tubos secos com gel separador (para obtenção soro). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 15 minutos para separação de alíquotas de plasma e soro e armazenadas a -80°C para posterior análises bioquímicas.

5.9) Desafio Agudo Experimental

As voluntárias foram instruídas a comparecerem ao Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Atividade Física – UNESP Rio Claro no período da manhã após desjejum habitual, devidamente trajadas para realização de exercício físico. A partir desse momento, as voluntárias normotensas e hipertensas foram divididas em três grupos como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Número de voluntárias normotensas e hipertensas de acordo com o desafio agudo experimental.

	ARG	EXE	ARG+EXE
Normotensas	11	10	10
Hipertensas	9	8	10

Este estudo foi caracterizado como clínico randomizado controlado, com mascaramento do paciente, e a divisão dos grupos foi feita da seguinte forma (Figura 8):

- * Arginina (ARG) → Sessão com administração de L-arginina e sem exercício físico
- * Exercício (EXE) → Sessão com administração de placebo e realização de exercício físico
- * Arginina + Exercício (ARG + EXE) → Sessão com administração de L-arginina e realização de exercício físico

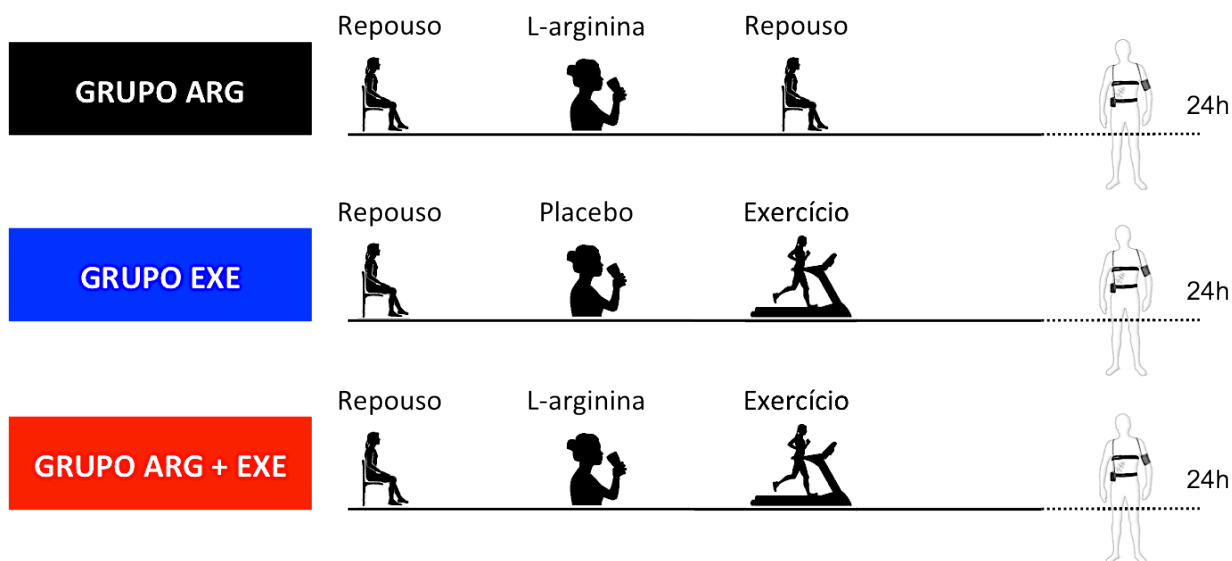


Figura 8. Desenho do protocolo do desafio agudo experimental com divisão de grupos.

Assim que chegaram ao Laboratório, as voluntárias foram encaminhadas para um ambiente calmo e silencioso para minimizar os efeitos estressores do ambiente e não interferirem nas medidas pressóricas. Elas foram, então, orientadas a ficarem em repouso na posição sentada. Após 20 minutos foram feitas 3 medidas consecutivas de pressão arterial no braço esquerdo utilizando o aparelho de pressão semiautomático. Considerou-se a média das três medidas como a PA basal. Logo em seguida, foi realizada a primeira coleta de sangue e iniciada a administração com 9g de L-arginina ou placebo, dependendo do desafio experimental realizado. A administração foi realizada durante um período de 15 min.

Nos desafios EXE e EXE+ARG, 45 minutos após a intervenção com L-arginina ou placebo, as voluntárias foram submetidas à uma sessão aguda de 30 minutos de exercício físico aeróbio em esteira ergométrica em intensidade correspondente a 100% da MFEL previamente determinada. No desafio ARG, as voluntárias permaneceram em repouso na posição sentada durante esse mesmo período de tempo.

Assim que terminaram o exercício físico ou aguardaram os 30 minutos em repouso, as voluntárias foram novamente encaminhadas para um ambiente calmo e silencioso. A partir desse momento, foi aferida a pressão arterial e realizadas coletas de sangue venoso por um período de 90 minutos dentro do laboratório. A frequência cardíaca foi monitorada durante todo o período de exercício físico e no período de 90 minutos após o exercício.

Finalizados esses procedimentos, aparelhos ambulatoriais de medição da pressão arterial (MAPA) foram instalados nas voluntárias e retirados 24 horas após a colocação.

Veja esquema do protocolo do desafio agudo experimental a seguir na figura 9.

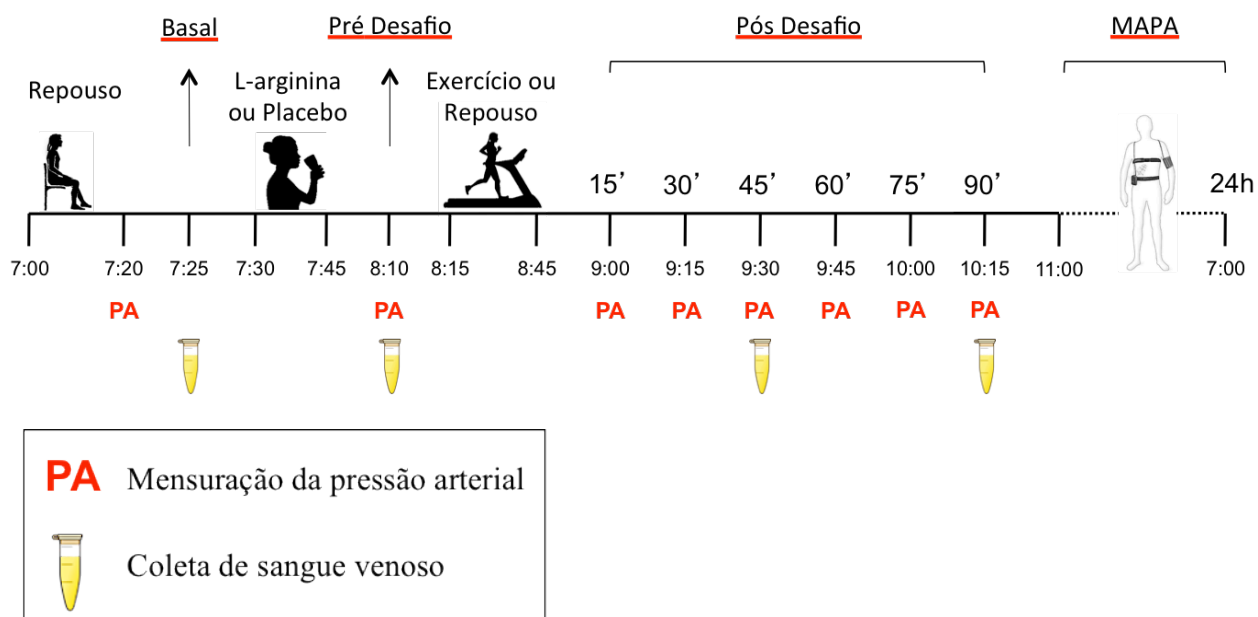


Figura 9. Desenho do protocolo do desafio agudo experimental.

5.9.1) Administração de L-Arginina e Placebo

Durante os desafios ARG e ARG+EXE, as voluntárias receberam doses idênticas do aminoácido L-arginina e placebo no desafio EXE. Os suplementos foram ingeridos na forma de cápsulas de maneira que as participantes não soubessem a qual grupo pertenciam. A quantidade de L-arginina foi de 9 gramas (g), divididas em 18 cápsulas de 0,5 g cada. Esse valor foi escolhido devido aos resultados de estudos prévios que relataram que essa quantidade de administração estaria dentro de uma faixa de segurança e apresentaram resultados positivos para indivíduos saudáveis e pacientes com doença arterial coronariana ou hipertensão (Shao & Hathcock, 2008; Siasos et al, 2007; Evans et al, 2004; Tangphao et al, 1999). Além disso, acima desta concentração não há maior aumento da concentração sérica da L-arginina e estão acompanhados efeitos colaterais como náuseas, diarréias e dores estomacais (Shao & Hathcock, 2008). A administração foi iniciada 45 minutos antes do início do exercício, pois estudos farmacocinéticos demonstram que o pico dos níveis plasmáticos acontece por volta de 45 a 60 minutos, podendo ficar elevado por até 8 horas após a administração com L-arginina (Evans et al, 2004; Tangphao et al, 1999). O grupo que teve administração com placebo (EXE) recebeu a mesma quantidade, no entanto, estas estavam vazias para evitar a interferência de outras substâncias nos resultados. Todos os grupos fizeram a ingestão das cápsulas com aproximadamente 400 mililitros (ml) de água.

5.9.2) Coleta de sangue venoso

Durante as sessões agudas, 4 amostras de sangue foram coletadas: uma no momento basal, e as outras imediatamente antes e após 45 e 90 min do período de realização do exercício físico. Após assepsia local, 10 mL de sangue foram obtidos em cada coleta, totalizando 40 mL de sangue coletados em cada desafio experimental, através da punção da veia antecúbital ou radial, utilizando-se de abocate, seringa e agulhas descartáveis. As amostras de sangue foram depositadas em tubos específicos, contendo EDTA (para obtenção do plasma) e tubos secos com gel separador (para obtenção soro). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 15 minutos para separação de alíquotas de plasma e soro e armazenadas a -80°C para posteriores análises bioquímicas.

5.9.3) Exercício Aeróbio Agudo

O exercício físico dos desafios experimentais consistiu em 30 minutos de exercício aeróbio na esteira ergométrica com velocidade fixa de 5,5 km/h, com a sobrecarga imposta através da inclinação da esteira (%), na intensidade da MFEL previamente determinada para cada voluntária. Esta intensidade e duração foram escolhidas pois 30 minutos de exercício aeróbio já são suficientes para proporcionarem alterações significativas na pressão arterial após sua realização (Anunciação & Polito, 2011). Além disso, esta intensidade pode ser caracterizada entre os limites de moderada e intensa, em que as voluntárias provavelmente não suportariam permanecer um período mais prolongado de tempo sem entrarem em exaustão (Beneke, Leithäuser & Ochentel, 2011; Faude, Kindermann & Meyer, 2009). No desafio agudo experimental realizado após o treinamento físico foi feito reajuste da intensidade, de acordo com os resultados encontrados na avaliação da aptidão aeróbia pós treinamento.

5.9.4) Mensuração da pressão arterial e frequência cardíaca

Durante todo o período que as voluntárias permaneceram no laboratório a pressão arterial foi monitorada utilizando o aparelho de pressão semiautomático, devidamente calibrado, da marca Microlife® modelo BP 3BT0A, que opera por meio do método oscilométrico, e a frequência cardíaca foi monitorada através do monitor de frequência cardíaca POLAR® modelo RS800. Em cada momento de medida da pressão arterial, foram realizadas 3 medidas consecutivas e considerada a média para análise. Caso alguma medida estivesse acima do intervalo de confiança de 95% das medidas, o valor discrepante foi descartado.

A monitorização ambulatorial de pressão arterial (MAPA) durante as 24 horas após os desafios agudos foram realizadas pelo aparelho Dyna Mapa⁺ (Cardios®, São Paulo, Brasil). A MAPA registrou a pressão arterial a cada 15 minutos durante o dia (período de vigília) e a cada 30 minutos durante a noite (período de sono).

O período de vigília foi considerado a partir de 11:00 horas após o fim dos procedimentos dos desafios agudos experimentais e o período do sono foi considerado entre 23:00 e 7:00 horas. Durante todo esse período as voluntárias foram instruídas a manterem suas atividades habituais, não praticarem atividade física durante o uso do aparelho e preencherem um recordatório sobre as atividades realizadas no dia do exame.

O Prof. Dr. Gilberto de Nucci, colaborador do projeto e médico, foi responsável pela avaliação dos resultados do MAPA, bem como a supervisão da administração da L-arginina.

5.10) Programa de Treinamento Físico Aeróbio (TF)

Após o teste para determinação da intensidade do exercício físico e a realização do desafio agudo experimental, as voluntárias foram submetidas a oito semanas de treinamento físico (TF) em esteira ergométrica, com frequência de três vezes por semana, em intensidade correspondente a 100% da MFEL, totalizando 24 sessões. Todas as sessões foram supervisionadas e realizadas no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Atividade Física – UNESP Rio Claro, em sala com controle de temperatura (aproximadamente 24° C) e umidade do ar (40-60%). Em todas as sessões as voluntárias utilizaram frequencímetro para monitoramento da frequência cardíaca. Antes de iniciar o exercício na intensidade pré-determinada, foi realizado aquecimento de 5 minutos com caminhada a 4 km/h com inclinação de 1% na esteira, bem como, ao final do exercício, foi realizada volta à calma durante 3 minutos com velocidade de 3,5 km/h sem inclinação na esteira.

O volume do treinamento físico foi incrementado progressivamente, de forma que as voluntárias iniciaram o programa com 30 minutos na 1^a, 2^a e 3^a semanas; 35 min na 4^a, 5^a e 6^a semanas; e, por fim, 40 min na 7^a e 8^a semanas. A duração do exercício foi controlada pelo cronômetro digital da própria esteira ergométrica e a intensidade com base nos valores pré-determinados nos testes de MFEL. Veja esquema do programa de treinamento físico na figura 10.

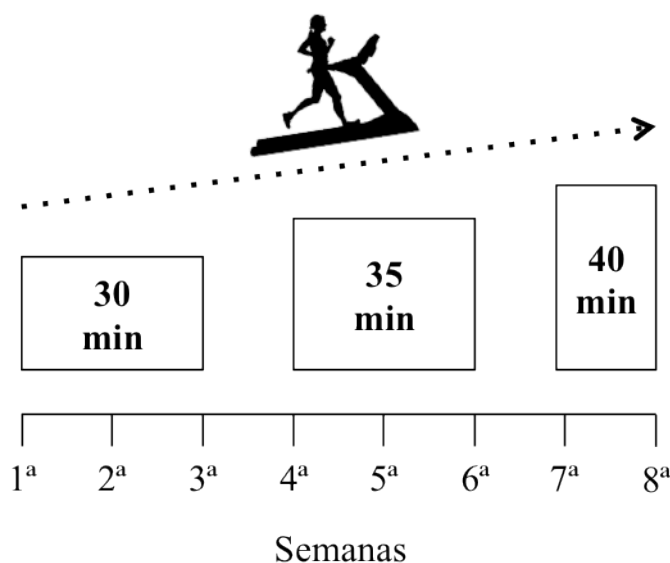


Figura 10. Duração das sessões do programa de treinamento físico.

Foram excluídas do projeto aquelas voluntárias que tivessem 2 faltas consecutivas ou que não completassem 95% de frequência nas 24 sessões de treinamento físico. Finalizadas as 8 semanas do programa de treinamento físico aeróbio, as voluntárias foram submetidas à reavaliação da aptidão aeróbia, dos exames sanguíneos em jejum e do desafio agudo experimental.

5.11) Análises Bioquímicas

A partir das amostras de soro e/ou plasma devidamente armazenadas, as análises bioquímicas foram realizadas por meio de kits comerciais pelo método espectrofotométrico. As análises de perfil lipídico e glicemia foram realizadas pelo Laboratório Evangélico na cidade de Rio Claro/SP, enquanto que as análises de cortisol e testosterona em jejum foram realizadas pelo Laboratório Franceschi Medicina Diagnóstica na cidade de Campinas/SP. Todas as análises restantes foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Atividade Física na Unesp de Rio Claro/SP. As amostras foram analisadas em duplicata e os coeficientes de variação intra e inter amostra apresentaram-se dentro dos limites recomendados pelos fabricantes dos kits comerciais utilizados.

* *Perfil lipídico e glicemia*

Amostras de soro foram utilizadas para a determinação dos níveis de colesterol total (CT), HDL Colesterol (HDL-C), LDL Colesterol (LDL-C), VLDL Colesterol (VLDL), triglicerídeos (TGL) e glicose pelo método enzimático automático (Cobas Mira Plus®).

* *Lactato*

A concentração sanguínea de lactato foi analisada através do método colorimétrico conforme descrito por Engels & Jones (1978). Basicamente as amostras de 25µL de sangue foram depositadas em tubos contendo 400µL de ácido tricloroacético (TCA) e levemente agitadas para homogeneizar a amostra. Após a homogeneização da amostra, elas foram centrifugadas e 50µL de sobrenadante foi adicionado a 250µL de reativo. Após incubação de 60 min, a concentração do lactato sanguíneo foi determinada com um comprimento de onda de 340nm através de um espectrofotômetro. Os valores de lactato estão expressos em mM. O reativo utilizado na reação é composto de 25 mL de estoque de Glicina/EDTA (20,2 g de glicina + 2,05 de EDTA + qsp de água destilada para 500 mL) adicionados a 2,25 mL de Hidrato de Hidrazina a 24% e ajustado para o pH de 9,45. Posteriormente, adiciona-se 50 mg de Beta-Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Sigma Aldrich®) e 75µL de Lactato desidrogenase (Sigma Aldrich®).

* *Nitrito/Nitrato (NOx⁻)*

Para determinação da produção endógena de NO foi realizada a quantificação dos ânions nitrito (NO₂⁻) e nitrato (NO₃⁻), produtos terminais da oxidação do NO. As amostras foram ultrafiltradas por meio de microfiltros (Microcon Centrifugal Filter Units, 10 kDa; Millipore, Bedford, MA, USA). Após o processo de filtração, a concentração de nitrito/nitrato foi determinada utilizando kit comercial Cayman Chemical (Ann Arbor, MI, USA), seguindo as instruções do fabricante. Inicialmente, o ensaio se dá pela conversão das concentrações de nitrato para nitrito através da enzima nitrato redutase. Em seguida, adiciona-se a sulfanilamida (Griss 1) e o N-(1-Naphthyl) ethylenediamine (Griss 2), promovendo a formação de um componente “azo” caracterizado pela coloração roxa, este último é quantificado através do comprimento de onda de 540-550 nm com auxílio de um espectrofotômetro.

* *Guanosina Monofosfato Cíclico (GMPc)*

Para determinação da concentração sérica de GMPc foi utilizado o kit comercial Cayman Chemical (Ann Arbor, MI, USA). Esse kit é baseado na competição entre o GMPc livre e GMPc-acetilcolinesterase (AChE) conjugado (GMPc tracer) por um número limitado de sítios de ligação específicos de GMPc de anticorpos de coelhos. Como a concentração de GMPc tracer é mantida constante enquanto a concentração de GMPc varia, a quantidade de GMPc tracer que é capaz de se ligar ao anticorpo de coelho é inversamente proporcional à concentração de GMPc no poço. Este complexo anticorpo de coelho–GMPc se liga ao anticorpo monoclonal de camundongo anti-coelho IgG, previamente ligado ao poço. Após a lavagem da placa e retirada do excesso de conjugado e amostra não ligadas ao anticorpo, o reagente Ellman (que contém o substrato de AChE) foi adicionado para determinar a atividade da enzima ligada. A coloração foi desenvolvida e interrompida após 120 minutos para leitura a 405nm. O produto dessa reação enzimática tem uma cor amarela e a intensidade desta cor, determinada por espectrofotometria, é proporcional à quantidade de marcador ligado ao GMPc no poço, que é inversamente proporcional à quantidade de GMPc livre presente no poço durante o período de incubação. O GMPc é expresso em pmol/mL.

* *Superóxido Dismutase (SOD)*

Amostras de plasma foram utilizadas para determinação da atividade da SOD com auxílio de kits comerciais (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) executados de acordo com as recomendações do fabricante. Este ensaio utiliza o sal tetrazólio para detecção do ânion superóxido gerado pela ação catalisadora da xantina oxidase sobre a hipoxantina. Uma unidade (U) de SOD é definida como a quantidade de enzima necessária para exibir 50% de dismutação do radical superóxido. A quantificação da atividade da enzima SOD foi realizada pelo método espectrofotométrico utilizando o comprimento de onda de 440nm.

* *Catalase (CAT)*

Amostras de plasma foram utilizadas para a determinação da atividade da catalase com auxílio de kits comerciais (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) executados de acordo com o fabricante. Este ensaio é baseado na reação desta enzima com o metanol na presença de uma concentração ótima de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). O formaldeído produzido é mensurado colorimetricamente com *Purpald* como o composto cromogênico. O *Purpald* forma especificamente um composto bicíclico heterocíclico com os aldeídos, que em estado de oxidação muda sua coloração para roxa. A quantificação da atividade da enzima catalase

foi realizada através do método espectrofotométrico utilizando um comprimento de onda de 540 nm.

* *Malondialdeído (MDA)*

Amostras de soro foram utilizadas para a determinação da peroxidação lipídica, através do composto malondialdeído (MDA). O ensaio do MDA (Kit Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) ocorre pela reação do ácido tiobarbitúrico sob alta temperatura (90 – 100°C) formando o composto “MDA-TBA adduct”. Este composto foi quantificado através do método espectrofotométrico utilizando o comprimento de onda de 530nm.

* *Cortisol e Testosterona em Jejum*

Cortisol: Amostras de soro foram utilizadas para a determinação dos níveis hormonais de cortisol pelo método quimioluminescência (ADVIA Centaur®). O ensaio ADVIA Centaur Cortisol é um imunoenensaio competitivo que recorre à tecnologia quimioluminescente direta. Existe uma relação inversa entre a quantidade de cortisol presente na amostra e a quantidade de unidades relativas de luz (RLUs) detectadas pelo sistema.

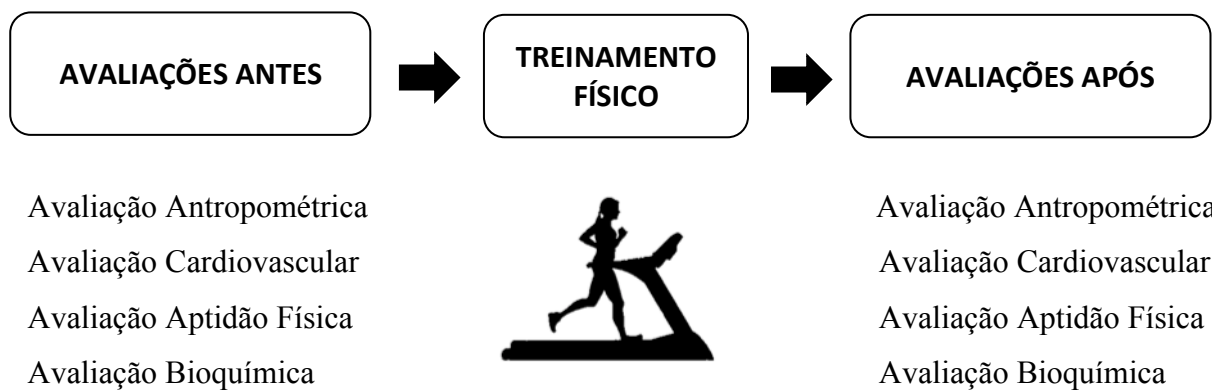
Testosterona Total: Amostras de soro foram utilizadas para a determinação dos níveis hormonais de testosterona total pelo método quimioluminescência (IMMULITE® 2000). O IMMULITE 2000 Testosterona Total é um imunoenensaio competitivo de fase sólida, de enzimas químico-luminosas. Os resultados são expressados em ng/dL.

* *Cortisol do Desafio Agudo Experimental*

Amostras de soro foram utilizadas para detreminação dos níveis hormonais de cortisol utilizando o kit comercial R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN, USA). Este ensaio baseia-se na técnica de ligação competitiva no qual o cortisol presente na amostra compete com uma quantidade fixa de peroxidase horseradish (HRP) que marca cortisol. A absorvância é lida a 450 nm e a intensidade da cor é inversamente proporcional à concentração de cortisol na amostra.

ESTUDO 1

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO ENTRE MULHERES NORMOTENSAS E HIPERTENSAS



6. OBJETIVO

Avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a pressão arterial, os hormônios esteróides (cortisol e testosterona) e os biomarcadores cardiovasculares (via do NO/GMPc e estado redox) em mulheres normotensas e hipertensas após a menopausa.

7. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Todos os resultados estão apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). Na avaliação dos resultados foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk para determinação da normalidade do conjunto de dados. Para avaliar o efeito do treinamento físico de 8 semanas e as diferenças entre os grupos foi utilizado Anova *two-way* e caso houvesse resultado significativo entre as variáveis, o *post hoc* de Bonferroni foi utilizado para detectar as possíveis diferenças. As análises e gráficos foram realizadas utilizando o software GraphPad Prisma versão 5 e admitiu-se nível de significância de 5% para todas as análises.

8. RESULTADOS

Inicialmente, em torno de 460 voluntárias demonstraram interesse em participar da pesquisa e compareceram ao laboratório para o cadastro inicial. Após algumas desistências ou mesmo exclusão por não se encaixarem nos critérios do estudo, 207 pessoas foram selecionadas para participar e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). No entanto, no decorrer do estudo, 146 participantes desistiram por motivos pessoais ou foram excluídas por não cumprirem todas as etapas exigidas, totalizando uma perda de 139%. Deste modo, os dados apresentados neste estudo são referentes ao número final de 61 voluntárias, 33 normotensas e 28 hipertensas (Figura 11).

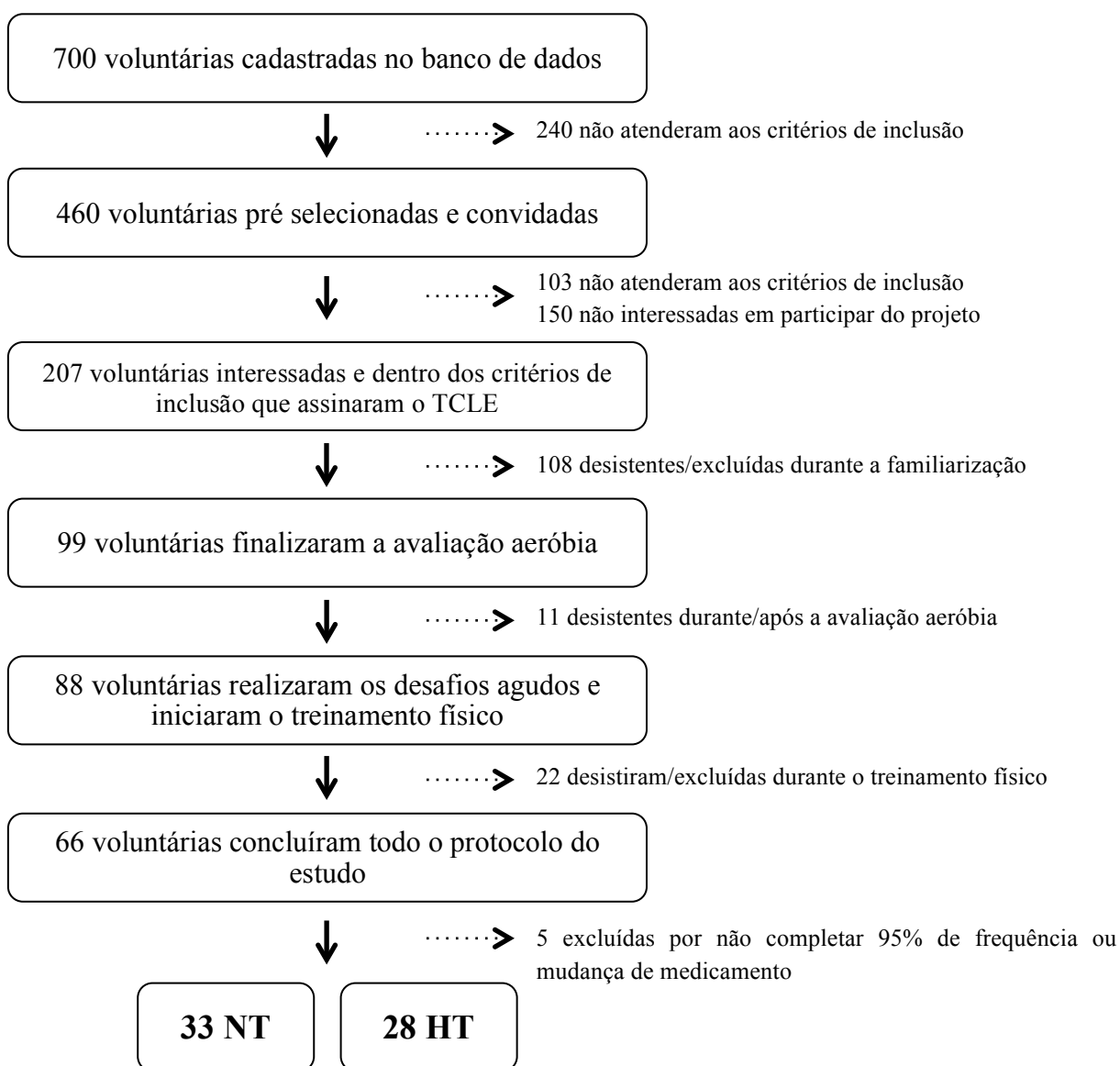


Figura 11. Seleção das voluntárias.

8.1) Características Gerais

A Tabela 3 apresenta as características gerais das voluntárias normotensas e hipertensas. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos NT e HT para as variáveis idade e tempo após a menopausa. Dessa forma, a população estudada apresenta homogeneidade em suas características, o que proporciona melhor análise dos objetivos propostos.

Tabela 3. Características gerais das voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT).

	NT	HT
n	33	28
Idade (anos)	55,6 ± 0,8	57,2 ± 1,0
Tempo após menopausa (anos)	8,0 ± 0,9	10,3 ± 1,2

8.2) Uso de Medicamentos

A Tabela 4 mostra os medicamentos utilizados pelas voluntárias de ambos os grupos. Das 31 voluntárias normotensas que concluíram a participação no estudo, 52% não tomavam nenhum tipo de medicamento e 13% utilizavam medicamento para tratamento de dislipidemia. Além de 13% que faziam uso de ansiolítico e 13% que suplementavam com cálcio. Todas as 28 voluntárias hipertensas eram medicadas, 39% fazia uso de estatina e 28% suplementavam com cálcio, 39% estavam sobre monoterapia e 61% politerapia para controle da pressão arterial. A Figura 12 descreve detalhadamente as características do tratamento anti-hipertensivo.

Tabela 4. Relação dos tipos de medicamentos utilizados pelas voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT).

	NT	HT
Estatina	4 (13%)	11 (39%)
Hormônio tireoidiano	1 (3%)	2 (7%)
Ansiolítico	4 (13%)	2 (7%)
Cálcio	4 (13%)	8 (28%)
Nenhum	16 (52%)	-
		Anti-hipertensivos
Monoterapia		11 (39%)
Politerapia		17 (61%)

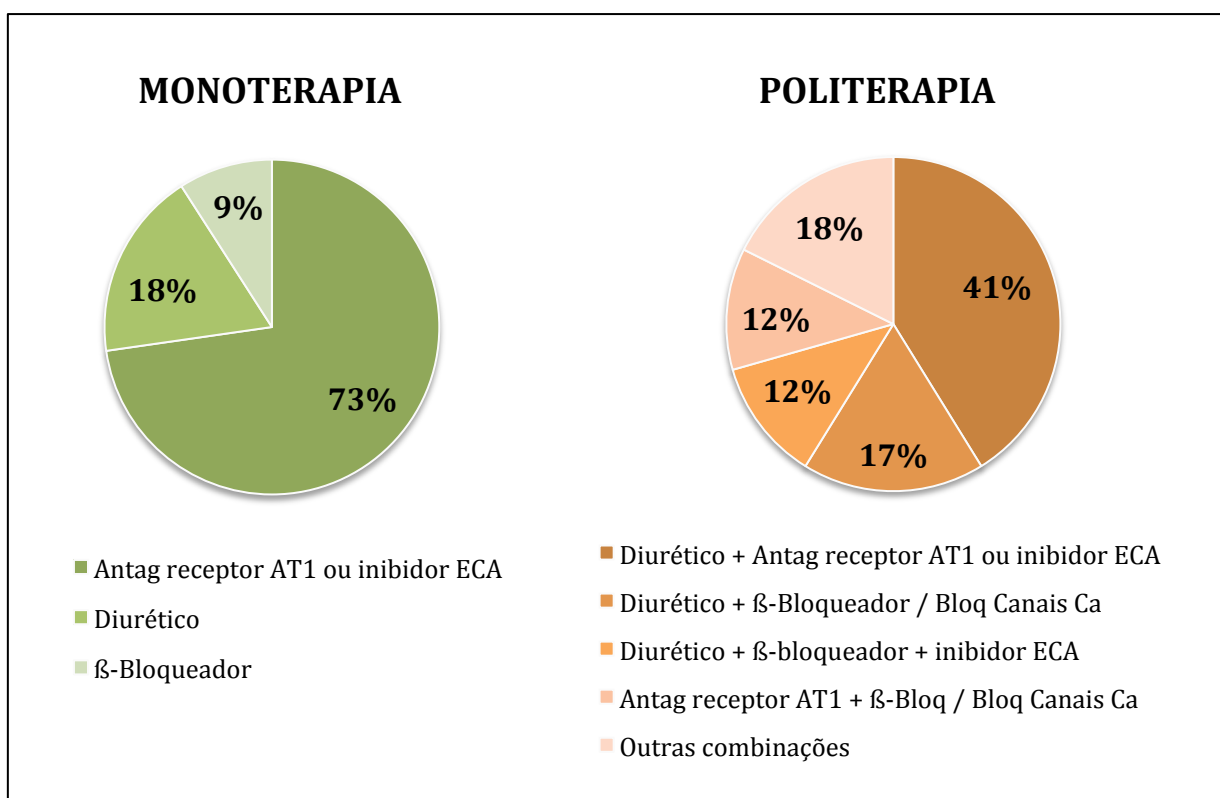


Figura 12. Características da terapia anti-hipertensiva. Ca: Cálcio; ECA: Enzima conversora de angiotensina.

8.3) Avaliação Antropométrica

A figura 13 apresenta os dados de massa corporal, IMC, medidas de circunferências e razão cintura-quadril, que se mantiveram após as 8 semanas de treinamento físico. Ambos os grupos apresentavam a mesma classificação de sobrepeso em relação ao IMC.

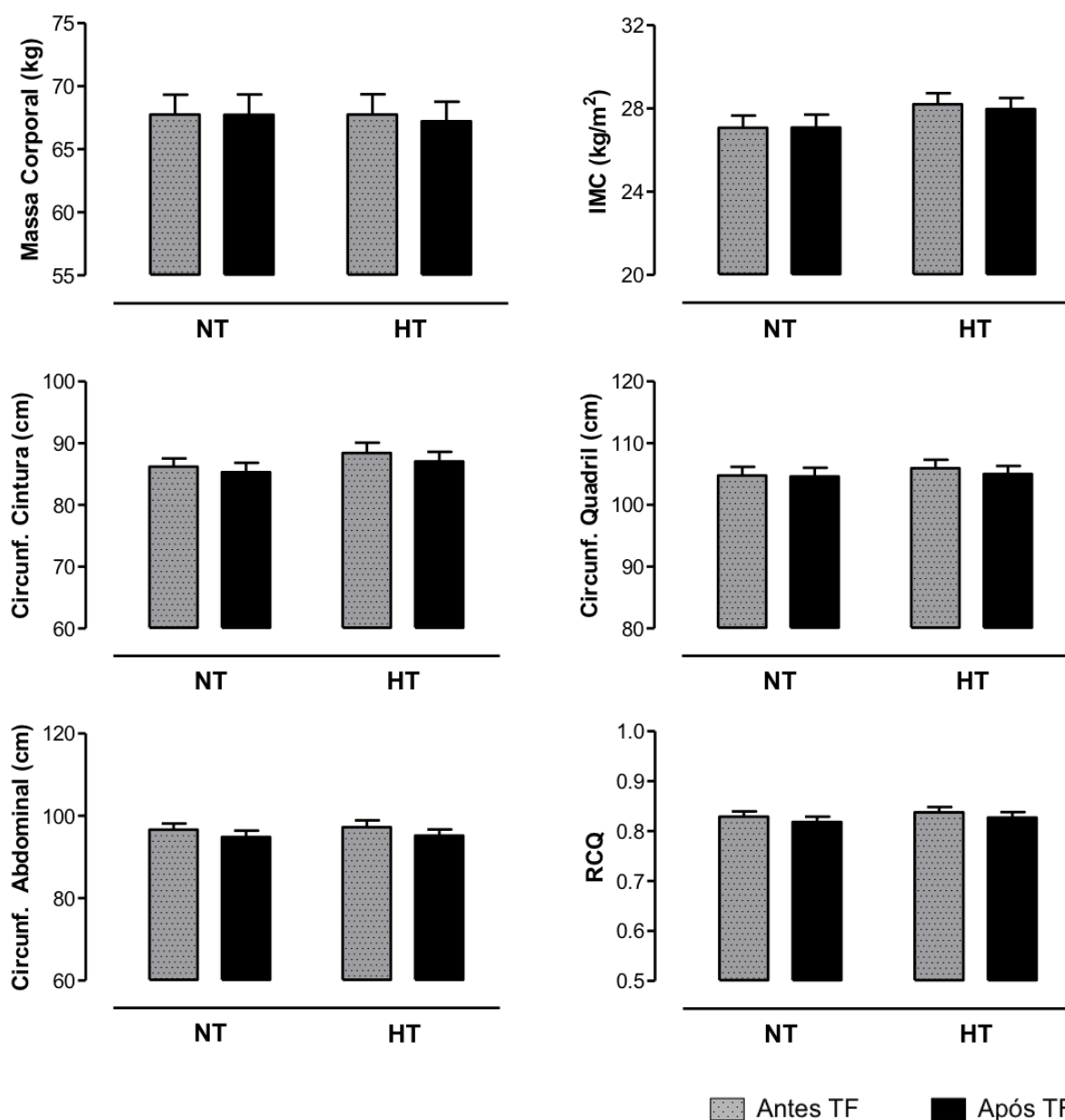


Figura 13. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre os parâmetros antropométricos em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa. IMC: Índice de Massa Corporal; Circunf: Circunferência; RCQ: Razão Cintura-Quadril.

8.4) Análise de Perfil Lipídico e Glicemia em Jejum

Os resultados do perfil lipídico e glicemia de jejum estão apresentados na Tabela 5 e não foram diferentes entre os grupos de mulheres normotensas e hipertensas. Apesar de o treinamento físico não ter promovido alterações nessas análises em ambos os grupos, esse resultado era esperado, pois não houve controle da dieta das voluntárias durante o protocolo de estudo. De acordo com a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (Xavier et al, 2013) e as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2013-2014), todos os valores de perfil lipídico e glicemia estão dentro de concentrações desejáveis.

Tabela 5. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre o perfil lipídico e glicêmico em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.

	NT		HT	
	Antes	Após	Antes	Após
CT (mg/dL)	210,0 ± 5,2	204,3 ± 4,6	199,4 ± 5,8	189,7 ± 4,5
HDL-C (mg/dL)	45,6 ± 1,6	48,3 ± 1,4	47,4 ± 1,3	48,3 ± 1,2
LDL-C (mg/dL)	137,0 ± 5,5	130,6 ± 4,3	126,9 ± 5,7	119,3 ± 4,4
VLDL (mg/dL)	26,5 ± 2,1	25,5 ± 1,7	25,1 ± 1,6	22,0 ± 1,4
Triglicerídeos (mg/dL)	132,5 ± 10,5	127,5 ± 8,6	125,6 ± 8,1	110,0 ± 7,2
Glicemia (mg/dL)	87,3 ± 1,6	90,8 ± 1,6	88,0 ± 1,6	90,7 ± 1,9

CT: Colesterol total; HDL-C: Lipoproteína de baixa densidade; LDL-C: Lipoproteína de alta densidade; VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade.

8.5) Avaliação da Aptidão Aeróbia

Os resultados da avaliação da intensidade de exercício correspondente à MFEL antes e após a participação no treinamento físico aeróbio de 8 semanas estão apresentados na Tabela 5 e Figuras 14 e 15. Foram excluídas das análises de FC seis voluntárias hipertensas que faziam uso de medicamentos β -bloqueadores (NT: 33 e HT: 22).

A figura 14 ilustra os resultados da concentração de lactato sanguíneo na intensidade da MFEL antes e após o treinamento físico de 8 semanas para as voluntárias

normotensas e hipertensas. A intensidade da MFEL foi considerada aquela intensidade (inclinação) em que o aumento na concentração de lactato não superasse 1 mmol/L entre o 10° e 30° minutos do teste, ou seja, a intensidade em que houvesse um equilíbrio entre a produção e remoção do lactato.

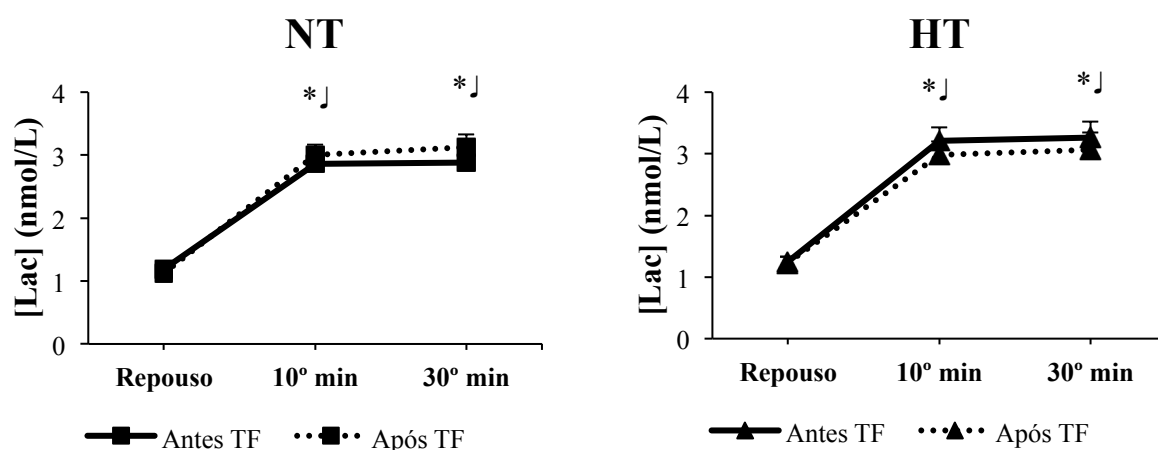


Figura 14. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a concentração de lactato sanguíneo durante a sessão de exercício correspondente à MFEL em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa. [Lac]: Concentração de lactato. * $p < 0,05$ vs basal antes TF; ↓ $p < 0,05$ vs basal após TF (Anova medidas repetidas).

A figura 15 apresenta a intensidade obtida a 100% da MFEL antes e após o treinamento físico. Nota-se que o aumento na intensidade (inclinação da esteira) da MFEL foi estatisticamente significativo após o treinamento físico de 8 semanas nos dois grupos (NT: 38% e HT: 35%), demonstrando que o programa de treinamento físico foi eficaz em melhorar a aptidão física de maneira similar entre as voluntárias NT e HT.

A concentração de lactato sanguíneo ([Lac]), a frequência cardíaca (FC) e a percepção subjetiva de esforço (PSE) não foram diferentes após o treinamento físico de oito semanas, mostrando que mesmo em uma intensidade mais alta, as participantes mantiveram os mesmos valores nos parâmetros analisados antes de iniciarem o programa de exercício físico (Tabela 6).

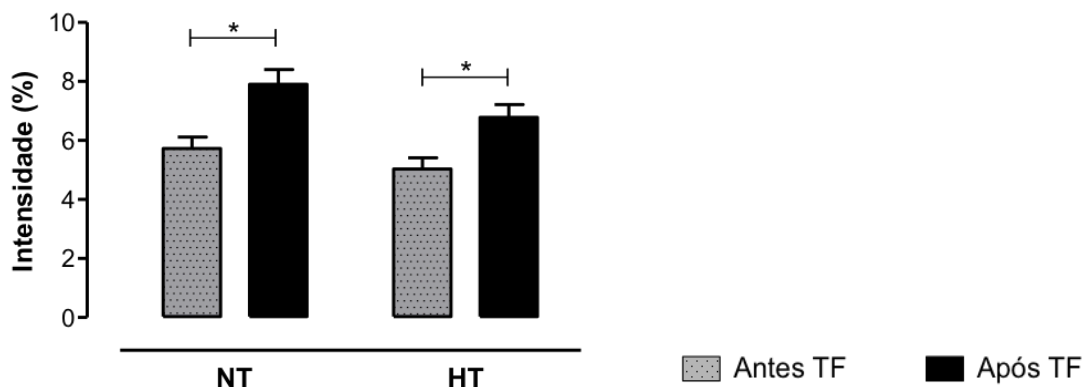


Figura 15. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a intensidade correspondente à MFEL em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa. * $p < 0,05$ (Anova *two-way*).

Tabela 6. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a frequência cardíaca e percepção subjetiva de esforço durante a sessão de exercício correspondente à MFEL em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.

	MFEL Antes		MFEL Após	
	10° min	30° min	10° min	30° min
NT				
FC (bpm)	147 ± 2	153 ± 3	148 ± 2	155 ± 2
PSE	12 ± 0	15 ± 0	13 ± 0	15 ± 0
HT				
FC (bpm)	142 ± 4	149 ± 4	140 ± 4	146 ± 4
PSE	13 ± 0	15 ± 0	13 ± 0	16 ± 0

MFEL: Máxima fase estável de lactato; FC: Frequência cardíaca; PSE: Percepção subjetiva de esforço. Foram excluídas das análises de FC seis voluntárias hipertensas que faziam uso de β -bloqueadores.

8.6) Avaliação Cardiovascular

Com relação às avaliações hemodinâmicas de repouso, é importante ressaltar que todas as voluntárias hipertensas faziam uso de medicação anti-hipertensiva, e em nenhum momento do estudo a medicação foi suspensa. Essa medida foi adotada devido aos aspectos éticos do projeto, para não causar riscos à saúde durante as intervenções e manter a validade

do estudo, reproduzindo a situação real das voluntárias que eram medicadas durante o seu dia a dia.

Não foram encontradas diferenças significativas nas pressões sistólica e diastólica após a conclusão do treinamento físico em ambos os grupos (Figura 16). Para análise da frequência cardíaca de repouso foram excluídas seis voluntárias hipertensas que faziam uso de medicamentos β -bloqueadores. Não foram verificadas alterações na FC após o treinamento físico de 8 semanas.

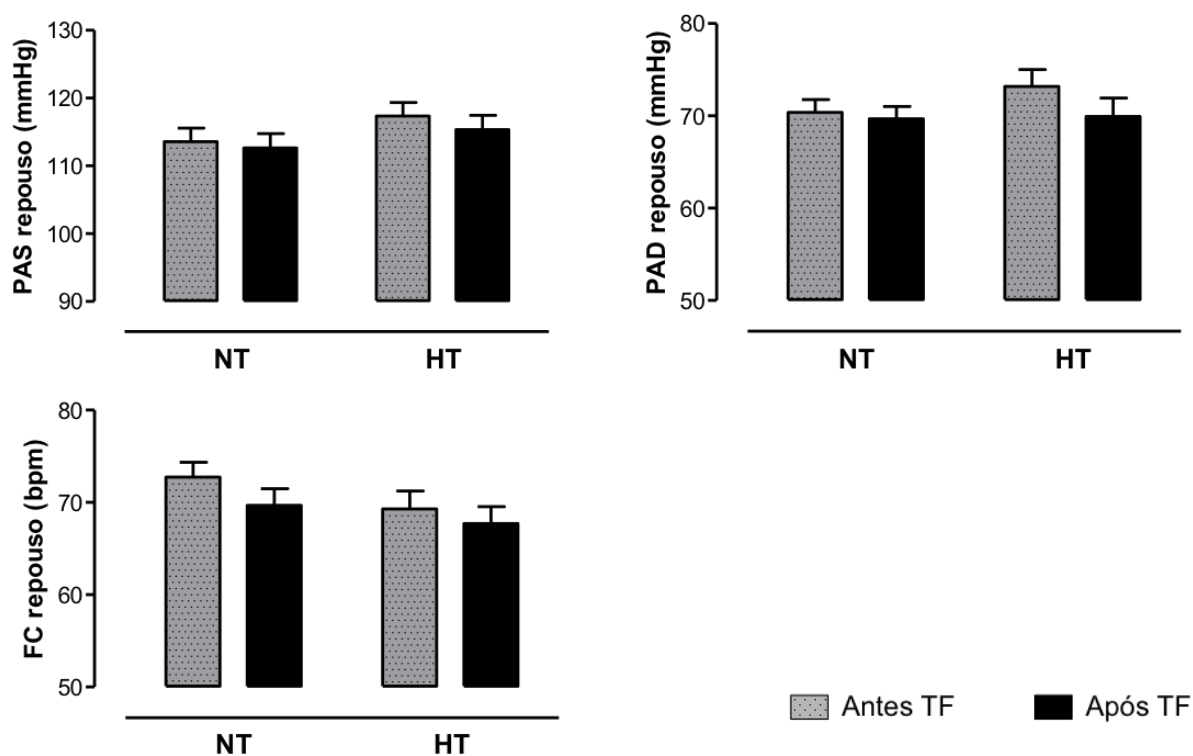


Figura 16. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a pressão arterial e frequência cardíaca de repouso em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa. PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca.

8.7) Avaliação Bioquímica

8.7.1) Análise da via NO/GMPc e estresse oxidativo

Na figura 17 foram analisados marcadores que compõem a via do óxido nítrico (NO) por meio da determinação dos níveis plasmáticos de nitrito/nitrato (NO_x^-) e GMPc. Nesse sentido, verificou-se que o grupo HT mostrou níveis aumentados de NO_x^- (42%) após o

protocolo de treinamento físico comparado ao grupo NT, embora não tenha sido encontrada alteração significativa nos níveis de GMPc em ambos os grupos.

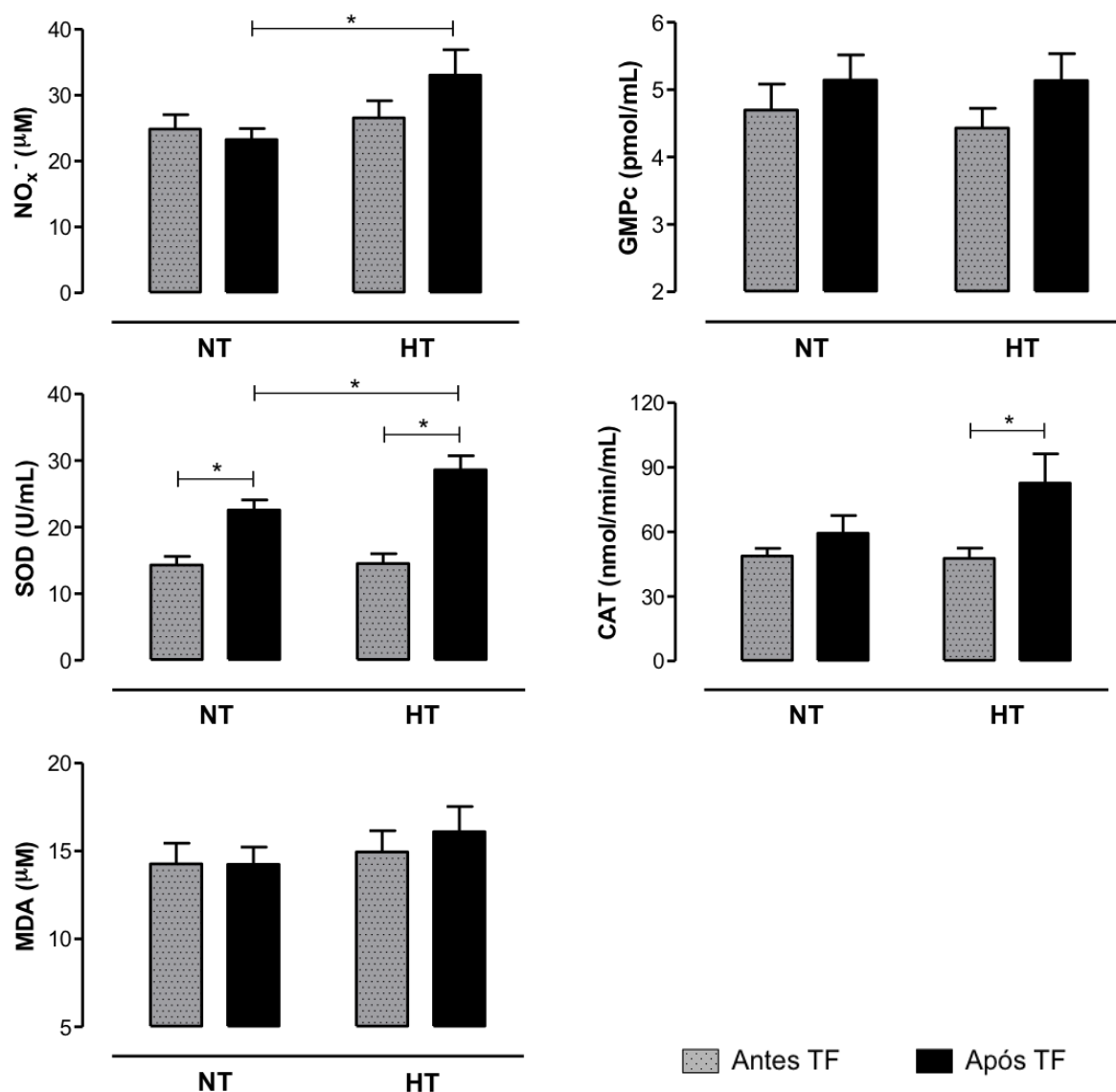


Figura 17. Efeito do treinamento físico aeróbico sobre a via do NO e estresse oxidativo em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa. NO_x⁻: nitrito/nitrato; GMPc: guanosina monofosfato cíclico; SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; MDA: malondialdeído. * p < 0,05 (Anova *two-way*).

Em relação ao estresse oxidativo, foram analisadas as atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Observou-se aumento significativo na atividade da SOD (NT: 58%; HT: 97%) em ambos os grupos, entretanto, a magnitude de aumento foi significativamente maior no grupo HT (27%). Não foram observadas alterações na atividade da catalase no grupo NT, enquanto no grupo HT houve um

aumento de 73% após o protocolo de treinamento físico. Os níveis de MDA, produto final da peroxidação lipídica, foram quantificados para caracterização do status oxidativo. Nenhuma alteração foi observada após as 24 sessões de exercício aeróbio em ambos os grupos.

8.7.2) Análises hormonais

A figura 18 apresenta os resultados dos biomarcadores hormonais em jejum de ambos os grupos após o programa de treinamento físico. Verificou-se que mulheres pós-menopausadas hipertensas possuem os mesmos níveis de cortisol e testosterona comparadas às mulheres normotensas. O treinamento físico não promoveu alterações nas concentrações séricas desses hormônios em ambos os grupos.

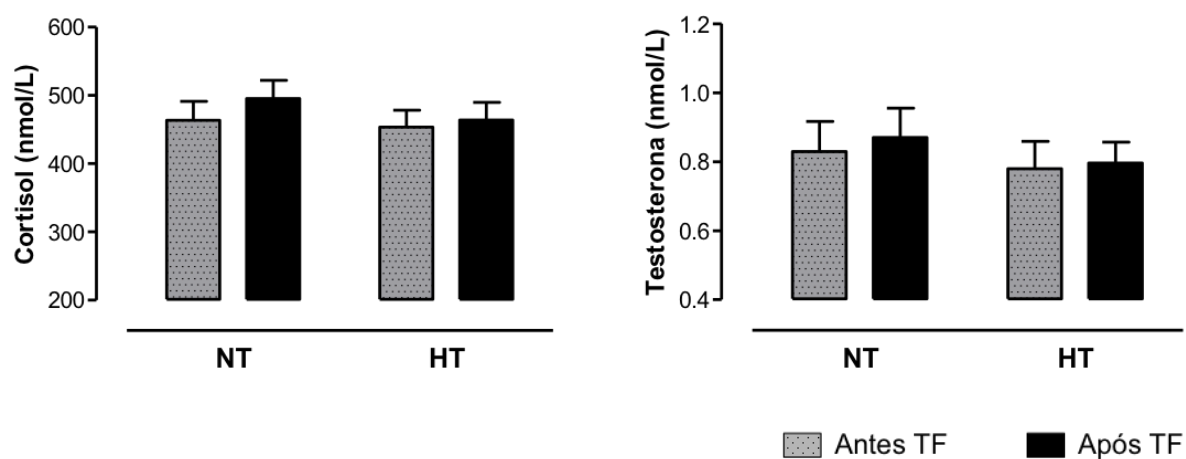


Figura 18. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre os níveis hormonais em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.

9. SUMÁRIO DOS RESULTADOS

Tabela 7. Efeito do treinamento físico aeróbio em voluntárias normotensas e hipertensas.

	NORMOTENSAS	HIPERTENSAS
Antropometria		
Massa Corporal e IMC	-	-
Circunferência Abdominal	-	-
Circunf. Cintura e Quadril	-	-
RCQ	-	-
Cardiovascular		
PAS repouso	-	-
PAD repouso	-	-
FC repouso	-	-
Perfil lipídico e glicemia		
Colesterol Total e LDL-C	-	-
HDL-C	-	-
VLDL-C	-	-
Triglicérides	-	-
Glicemia	-	-
Via NO e estado redox		
NO _x ⁻	-	> NT
GMPC	-	-
SOD	↑	↑↑
Catalase	-	↑
MDA	-	-
Análises hormonais		
Cortisol	-	-
Testosterona Total	-	-

IMC: Índice de massa corporal; Circunf: Circunferência; RCQ: Relação cintura-quadril; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca; LDL-C: Lipoproteína de baixa densidade; HDL-C: Lipoproteína de alta densidade; VLDL-C: Lipoproteína de muito baixa densidade; NO_x⁻: Nitrito/nitrato; GMPC: Monofosfato cíclico de guanosina; SOD: Superóxido dismutase; MDA: Malondialdeído. - : sem alterações; >: maior que; ↑: aumento; ↓: redução; ↑↑: aumento após TF e maior comparado à NT.

10. DISCUSSÃO

Sabe-se que os hormônios ovarianios exercem efeito protetor ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como hipertensão arterial e aterosclerose. Estudos mostram que o estrogênio é capaz de modular a função endotelial ao elevar a produção de NO (Wassertheil-Smoller et al, 2000; Cardoso et al, 2007; Zanesco & Zaros, 2009; Knowlton & Lee, 2012). Além disso, parece que os estrógenos podem modular a síntese de endotelina, um potente vasoconstritor, bem como alterar o balanço entre a produção de angiotensina II e angiotensina 1-7 (Freitas, 2001; Tostes et al, 2003). Assim, a deficiência de 17-beta estradiol, principal estrogênio circulante, após a menopausa parece contribuir para maior prevalência de hipertensão arterial em mulheres, quando comparadas com homens da mesma idade (Kim et al, 2006; Ong et al, 2008). No entanto, a maioria dos estudos que demonstraram os efeitos dos estrógenos sobre o sistema cardiovascular foram em modelos experimentais (Tostes et al, 2003; Heeren et al, 2009; Flores et al, 2010; Sanches et al, 2012), enquanto que os estudos em seres humanos, mulheres, ainda não são conclusivos.

Com relação aos androgênios e sistema cardiovascular, seu papel ainda é controverso em mulheres na pós-menopausa. Alguns estudos sugerem um papel negativo dos andrógenos, mostrando associação positiva dos níveis de testosterona em mulheres na pós-menopausa com a pressão arterial, níveis de colesterol total e LDL colesterol (Phillips et al, 2000; Lima, Wofford & Reckelhoff, 2012), e ainda com o índice de massa corporal (Lukanova et al, 2004). Além disso, trabalho prévio mostrou efeito deletério da suplementação com androgênios na reatividade vascular (McCredie et al, 1998). Por outro lado, trabalho recente mostra que a deficiência de testosterona poderia ser um fator de risco para o desenvolvimento de placas de aterosclerose em ratas ovariectomizadas e com *knockout* para o receptor de andrógeno (Fagman et al, 2015).

Assim, neste estudo foi avaliado os níveis séricos de testosterona total em jejum em mulheres normotensas e hipertensas após a menopausa, e os níveis de testosterona total foram similares entre os dois grupos. Podemos observar também que os níveis circulantes de testosterona encontrados na população apresentavam-se baixos ($0,77 \pm 0,06$ nmol/L) quando comparados com mulheres jovens ($1,40 \pm 0,21$ nmol/L) analisados em estudo recente (O'Leary et al, 2013). No entanto, os valores de testosterona encontrados em nosso estudo foram similares àqueles observados em estudos anteriores (Phillips et al, 2000; Jones et al, 2013; Matsui et al, 2013; Zhao et al, 2013). Por outro lado, alguns estudos que também

avaliaram mulheres na pós-menopausa encontraram valores de testosterona basais relativamente superiores aos nossos (Vicennati et al, 2006; Montalcini et al, 2007).

Ainda em se tratando de riscos para doenças cardiovasculares, evidências apontam que o excesso de glicocorticóides pode estar relacionado com a gênese da hipertensão arterial. A secreção de cortisol tem um padrão circadiano, com níveis mais altos pela manhã e mais baixos à noite. Este padrão não é significativamente afetado com o envelhecimento, mas os níveis tendem a aumentar (Van Cauter, Leproult & Kupfer, 1996; Ferrari et al, 2001). Os níveis de cortisol em mulheres na pós-menopausa também apresentam resultados conflitantes. Níveis mais altos de cortisol foram observadas em mulheres após a menopausa quando comparadas às mulheres jovens (Patacchioli et al, 2006), enquanto que outros trabalhos não detectaram diferenças significativas entre mulheres na pré- e pós-menopausa (Kalleinen et al, 2008; McInnes et al, 2012). Apesar do cortisol ser essencial na resposta ao estresse agudo, a elevação crônica desse hormônio é considerada prejudicial (Rosmond & Björntorp, 2000), pois evidências mostram que esse hormônio pode estar envolvido no mecanismo de redução da produção de NO, o que poderia causar elevação da pressão arterial (Turner et al, 1996; Kelly et al, 1998; Wallerath et al, 1999; Whitworth, Mangos & Kelly, 2000; Lou et al, 2001). Além disso, níveis elevados de glicocorticóides também parecem estar associados com a obesidade e deposição de tecido adiposo visceral (Vicennati et al, 2006; Yamatani et al, 2013).

Os níveis de cortisol basal das voluntárias deste estudo estão dentro dos valores normais, e seus valores foram similares entre mulheres normotensas e hipertensas. No entanto, deve-se enfatizar que as concentrações estão bem próximas ao limite máximo superior. Similar aos nossos dados, um estudo que avaliou mulheres na pós-menopausa normotensas e hipertensas não encontrou diferenças entre os grupos, porém, os autores observaram concentrações de cortisol relativamente menores que os nossos (Saxena & Seely, 2012). Outros trabalhos que avaliaram mulheres pós-menopausadas também encontraram níveis hormonais basais de cortisol relativamente menores do que os observados em nosso estudo (Phillips et al, 2000; Kalleinen et al, 2008; Freitas et al, 2012).

Sabe-se que o exercício físico aeróbio de moderada intensidade, realizado continuamente, promove efeitos benéficos tanto na prevenção quanto no tratamento das doenças cardiovasculares, e sua prática regular tem sido recomendada por diferentes associações de saúde do mundo. Seus benefícios também tem sido demonstrados na prevenção e/ou tratamento da hipertensão arterial (Kingwell, 2000; Pescatello et al, 2004; Laterza et al, 2007; Zanesco & Antunes, 2007). Sendo assim, a inatividade física e o baixo

nível de condicionamento físico são considerados fatores de risco para o desenvolvimento dessas doenças (Donnelly et al, 2009). O exercício físico aumenta o fluxo sanguíneo pulsátil e a pressão que o sangue exerce sobre a parede vascular, e a força de cisalhamento sob as células endoteliais são estímulos poderosos para a geração de NO no sistema vascular. Assim, um dos efeitos benéficos do exercício físico regular está estreitamente relacionado à maior produção de NO e/ou sua menor inativação. Estes efeitos tem sido associados a aumento na atividade de enzima eNOS, aumento na expressão de enzimas antioxidantes ou redução na expressão de subunidades de enzimas oxidantes, principalmente a NADPH oxidase (Sessa et al, 1994; Kingwell, 2000; Zanesco & Antunes, 2007; de Moraes et al, 2008; Claudino et al, 2011). Assim, em nosso trabalho avaliamos a via NO/GMPc e o estado redox das voluntárias antes e após um programa de treinamento físico aeróbio.

Apesar do programa de treinamento físico não ter provocado alteração nas concentrações de nitrito/nitrato e GMPc, os níveis de NOx⁻ mostraram-se maiores nas voluntárias hipertensas após o treinamento físico, sugerindo que o exercício físico pode ser o estímulo necessário para estimular a via NO/GMPc e alcançar um importante ganho cardiovascular, principalmente em mulheres após a menopausa. De fato, trabalhos prévios de nosso laboratório mostram que as concentrações de nitrito/nitrato não são diferentes entre as mulheres normotensas e hipertensas (Sponton et al, 2010; Esposti et al, 2011).

Com relação ao estado redox, observamos que a atividade da enzima antioxidante SOD foi marcadamente aumentada pelo treinamento físico aeróbio em mulheres normotensas e hipertensas, com maior magnitude no grupo de hipertensas. Esse aumento expressivo na atividade da enzima SOD não se refletiu em redução de pressão arterial nas voluntárias do estudo. O treinamento físico também promoveu aumento na atividade da enzima catalase nas voluntárias hipertensas, sugerindo que mulheres com patologia cardiovascular podem ser mais responsivas aos efeitos benéficos do exercício aeróbio. Não detectamos qualquer alteração nas concentrações de MDA, tanto no estado basal quanto após o treinamento físico, entre os grupos de mulheres normotensas e hipertensas. Evidências mostram que apesar do exercício físico promover aumento do estresse oxidativo, os efeitos prolongados do treinamento físico tem sido associados com maior atividade antioxidante, principalmente em modelos animais (Radak, Chung & Goto, 2008; Radak et al, 2013). Por outro lado, estudos avaliando pacientes hipertensos mostram maior produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nesses pacientes e demonstram uma associação positiva entre estresse oxidativo e disfunção endotelial (Cai & Harrison, 2000). Trabalho prévio mostrou que mulheres com ciclo menstrual normal apresentam concentrações de MDA relativamente inferiores às

encontradas nas mulheres posmenopausadas deste estudo (Lutosławska et al, 2003). Nosso trabalho, no entanto, não detectou qualquer alteração nos níveis de MDA, mas claramente mostra que o programa de treinamento físico eleva a atividade da enzima SOD e catalase de maneira significativa.

Já está bem estabelecido que o exercício físico é um estímulo fundamental para prevenção do ganho de peso corporal e promoção da perda de peso (Swift et al, 2014). Nossos resultados não demonstram efeitos do treinamento físico aeróbio na massa corporal, IMC e medidas de circunferência nas mulheres normotensas hipertensas. Alguns autores sugerem que aliar a restrição calórica ao protocolo de treinamento físico potencializa a perda de peso, e que, sem a dieta, os protocolos com maior volume são mais eficazes no controle de peso corporal (Donnelly et al, 2009). De fato, estudo recente encontrou maior redução do peso corporal com mulheres na pós-menopausa quando associou dieta e exercício físico (Abbenhardt et al, 2013). Além disso, é importante ressaltar que o estilo de vida fisicamente ativo pode promover outros benefícios, como aumento na massa muscular, melhorando assim a qualidade de vida das mulheres nesta faixa etária (Stehr & Von Lengerke, 2012).

Diversos autores mostraram que as alterações de perfil lipídico e/ou glicemia em resposta ao treinamento físico são mais evidentes quando esses parâmetros estão elevados, como nas dislipidemias e no diabetes mellitus (Kadoglou et al, 2007; Mann, Beedie & Jimenez, 2014), e nosso protocolo não promoveu modificações significativas nesses parâmetros. Esses achados corroboram com outros autores, considerando que estudos realizados com mulheres na pós-menopausa não encontraram redução de perfil lipídico também utilizando exercício em intensidade moderada, porém com protocolos de treinamento mais longos (Arsenault et al, 2009) ou com diferentes intensidades de exercício físico (Church et al, 2007).

Em relação à aptidão física, de acordo com vários autores, a intensidade correspondente à MFEL deve ser o parâmetro utilizado para prescrição de exercícios físicos, e a intensidade de exercício correspondente à MFEL é mais importante que a [Lac] *per se* (Faude, Kindermann & Meyer, 2009; Beneke, Leithäuser & Ochentel, 2011). Nosso estudo é um dos primeiros a avaliar a intensidade correspondente à MFEL em mulheres após a menopausa utilizando um protocolo de exercício adaptado à população estudada. Sabe-se que a MFEL geralmente ocorre com uma concentração de lactato média de 4 mM em diferentes populações (Simões et al, 2010a; Simões et al, 2010b; Beneke, Leithäuser & Ochentel, 2011), porém, em nosso estudo observamos que a [Lac] da MFEL foi menor (cerca de 3 mM). Um possível mecanismo seria que a população estudada possui menor quantidade de massa

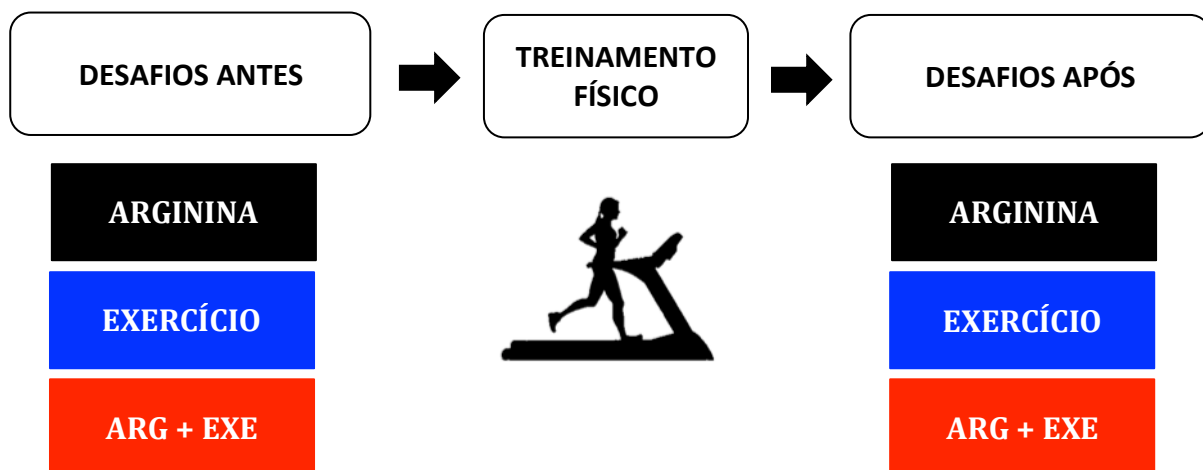
muscular. De fato, alguns autores reportaram que tanto a MFEL quanto a intensidade correspondente à MFEL reduzem com o envelhecimento, principalmente em mulheres, e essa redução estaria relacionada à massa muscular, bem como o tipo de exercício executado (Mattern et al, 2003; Korhonen, Suominen & Mero, 2005).

11. CONCLUSÕES

Em conjunto, os resultados apresentados mostraram que apesar de não ter mudanças nas concentrações circulantes da via NO/GMPc, o treinamento físico aeróbio pode contribuir substancialmente para melhorar a defesa antioxidante das mulheres pós-menopausadas hipertensas, o que poderia contribuir para a saúde cardiovascular dessa população. Além disso, considerando que estudos experimentais sugerem que alterações nos níveis de testosterona e cortisol poderiam estar envolvidos na maior gênese de hipertensão arterial em mulheres após a menopausa, nosso estudo não encontrou essa associação em seres humanos. Também é importante ressaltar que a máxima fase estável de lactato pode ser utilizada na prescrição de exercícios físicos para mulheres pós-menopausadas, tanto normotensas quanto hipertensas, sendo uma intensidade que consegue promover importantes melhoras na aptidão aeróbia e saúde cardiovascular dessa população.

ESTUDO 2

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO ENTRE MULHERES
NORMOTENSAS E HIPERTENSAS
FRENTE À UM DESAFIO AGUDO COM EXERCÍCIO E L-ARGININA**



12. OBJETIVO

Avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre as respostas cardiovasculares e endócrino-metabólicas frente à exposição aguda com exercício físico aeróbio e administração de L-arginina em mulheres normotensas e hipertensas após a menopausa.

13. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Todos os resultados estão apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). Na avaliação dos resultados foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk para determinação da normalidade do conjunto de dados.

A variabilidade da pressão arterial (ARV – *average real variability*) obtida com os dados do MAPA foi calculada conforme fórmula proposta previamente por Mena *et al* (2005). A área abaixo da curva (AUC) foi calculada pelo método trapezoidal (cálculo da integral) para avaliar o comportamento das variáveis em razão do tempo através do software GraphPad Prisma versão 5.

Para avaliar as alterações ocorridas durante cada desafio agudo foi utilizada Anova medidas repetidas e para comparações entre os desafios, foi utilizada Anova *one-way*. Caso houvesse diferença entre as variáveis, foi aplicado o *post hoc* de Tukey. Enquanto que para comparações entre os grupos NT e HT foi utilizado Anova *two-way*, seguida de *post hoc* de Bonferroni para detectar as diferenças. Para verificar diferenças após o treinamento físico, foi utilizado teste *t* de Student para amostras pareadas. As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prisma versão 5 e admitiu-se nível de significância de 5% para todas as análises.

14. RESULTADOS

Como explicitado anteriormente no capítulo de Materiais e Métodos, as voluntárias foram submetidas à um desafio agudo experimental antes e após o protocolo de 8 semanas de treinamento físico. Nesse desafio foi feita administração com L-arginina (para os grupos ARG e ARG+EXE) e exercício físico (para os grupos EXE e ARG+EXE), além de acompanhamento da pressão arterial a cada 15 minutos após a realização do desafio e coletas sanguíneas antes e após o desafio para todos os protocolos. Nesse momento, as voluntárias foram divididas de acordo com o desafio agudo realizado, conforme apresentado na tabela 8.

Tabela 8. Número de voluntárias normotensas e hipertensas de acordo com o desafio agudo experimental.

	ARG	EXE	ARG+EXE
Normotensas	11	10	10
Hipertensas	9	8	10

Veja o esquema do protocolo experimental do desafio agudo na figura 19.

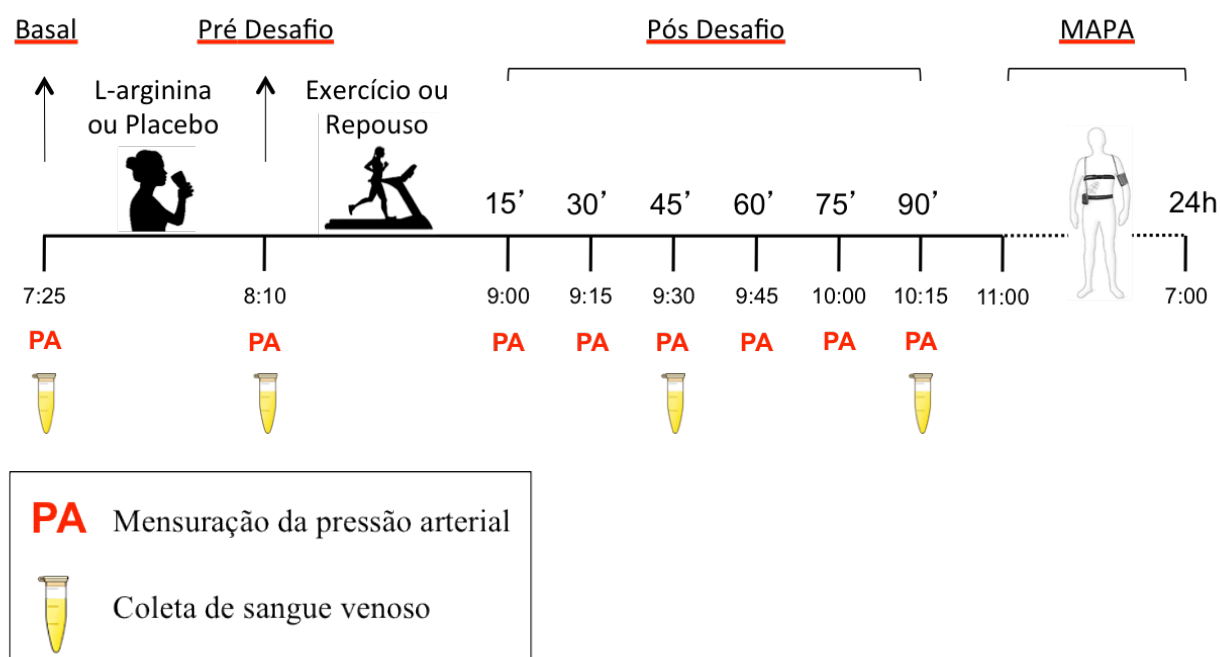


Figura 19. Desenho do protocolo do desafio agudo experimental.

14.1) Análise do comportamento dos desafios agudos

14.1.1) Avaliação cardiovascular

Para analisar o comportamento dos desafios agudos, foi escolhido teste estatístico Anova para medidas repetidas ponto a ponto e foram avaliadas diferenças em relação ao momento basal de cada grupo separadamente. O objetivo foi analisar o efeito de cada estímulo (L-arginina, exercício físico e associação de ambos) no comportamento de cada variável durante o protocolo experimental agudo. Além disso, também foi utilizado Anova *one-way* para comparar a área abaixo da curva (AUC) do valor absoluto das variáveis entre os grupos. Para análise da frequência cardíaca foram excluídas cinco voluntárias hipertensas que faziam uso de medicamentos β -bloqueadores.

Para as voluntárias normotensas, a Anova medidas repetidas mostrou que o grupo que associou a administração com L-arginina e exercício físico (ARG+EXE) foi o único capaz de promover redução de PAS durante a avaliação (Figura 20). Os grupos que realizaram somente a administração (ARG) ou o exercício físico (EXE) isolados não tiveram alterações significativas na PAS. Após 8 semanas de treinamento físico aeróbio, o mesmo desafio agudo foi realizado com as voluntárias e, novamente, a PAS se mostrou responsiva apenas à associação de L-arginina e exercício físico (ARG+EXE).

O cálculo da AUC da pressão arterial durante os desafios agudos mostrou que, antes do treinamento físico, os grupos que realizaram o exercício físico agudo (EXE e ARG+EXE) apresentaram maior AUC da PAS quando comparados com o grupo que não realizou o exercício (ARG). No entanto, após completar 8 semanas de treinamento físico, não são percebidas diferenças na AUC da PAS entre os grupos, mostrando que os diferentes estímulos promovem as mesmas alterações na PAS das mulheres normotensas.

Ainda na figura 20, para as voluntárias hipertensas, nenhum dos desafios agudos experimentais promoveu alteração da PAS. O mesmo foi observado após finalizar as 8 semanas de treinamento físico aeróbio de moderada intensidade. Além disso, o cálculo da AUC do comportamento da pressão arterial das voluntárias hipertensas apresentou resultados similares antes e após o treinamento físico, em que os diferentes estímulos (L-arginina, exercício físico e associados) promovem alterações semelhantes da PAS.

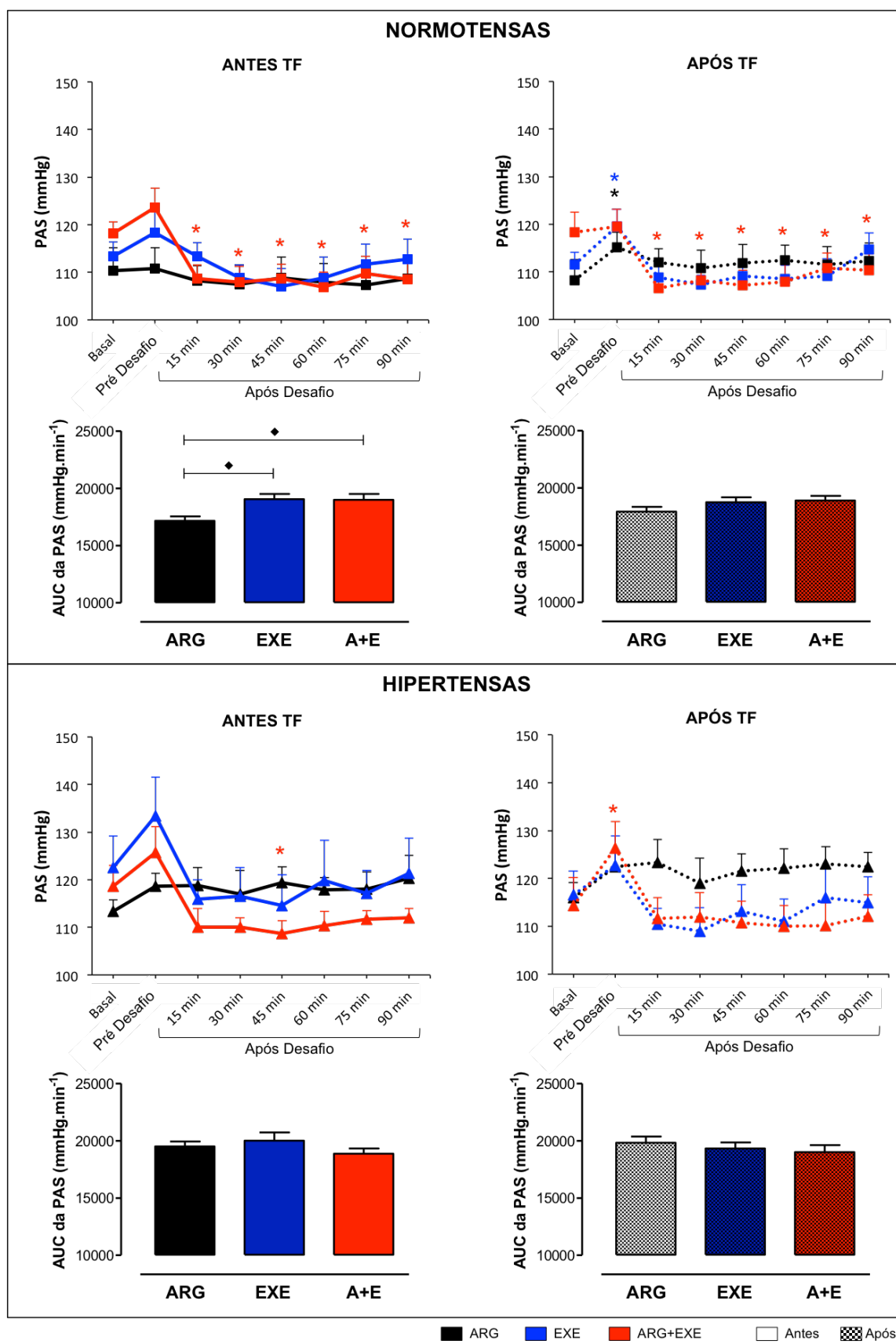


Figura 20. Comportamento da pressão arterial sistólica (PAS) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ vs respectivo basal (Anova medidas repetidas); ♦ $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

Na figura 21, que apresenta os dados em relação à PAD, tanto nas mulheres normotensas quanto nas hipertensas, os desafios com administração de L-arginina e exercício físico, realizados de maneira isolada ou combinados, promoveram alteração da PAD somente em alguns momentos aleatórios. O mesmo ocorreu após o treinamento físico de 8 semanas.

O cálculo da AUC da PAD mostrou que os estímulos com administração de L-arginina, exercício físico agudo e a associação de ambos promovem alterações similares na PAD. Esse resultado foi visto nos grupos de mulheres normotensas e hipertensas. O treinamento físico de 8 semanas, por sua vez, não modifica essa resposta.

Na figura 22 é apresentado o comportamento da FC e, como esperado, houve aumento de FC durante o período de avaliação nos grupos que realizaram exercício físico (EXE e ARG+EXE). Esse resultado foi similar para o grupo de NT e HT e se repetiu após a conclusão do protocolo de treinamento físico. Além disso, os grupos de NT e HT que realizaram administração com L-arginina (ARG) mostraram uma FC reduzida comparada ao basal durante todo o desafio agudo.

O cálculo da AUC da FC mostrou que somente os grupos de NT e HT que realizaram o exercício físico sem associação com o aminoácido (EXE) mantiveram a FC aumentada durante todo o período de avaliação, quando comparados com os grupos que realizaram administração de L-arginina de maneira isolada ou associada ao exercício físico (ARG e ARG+EXE).

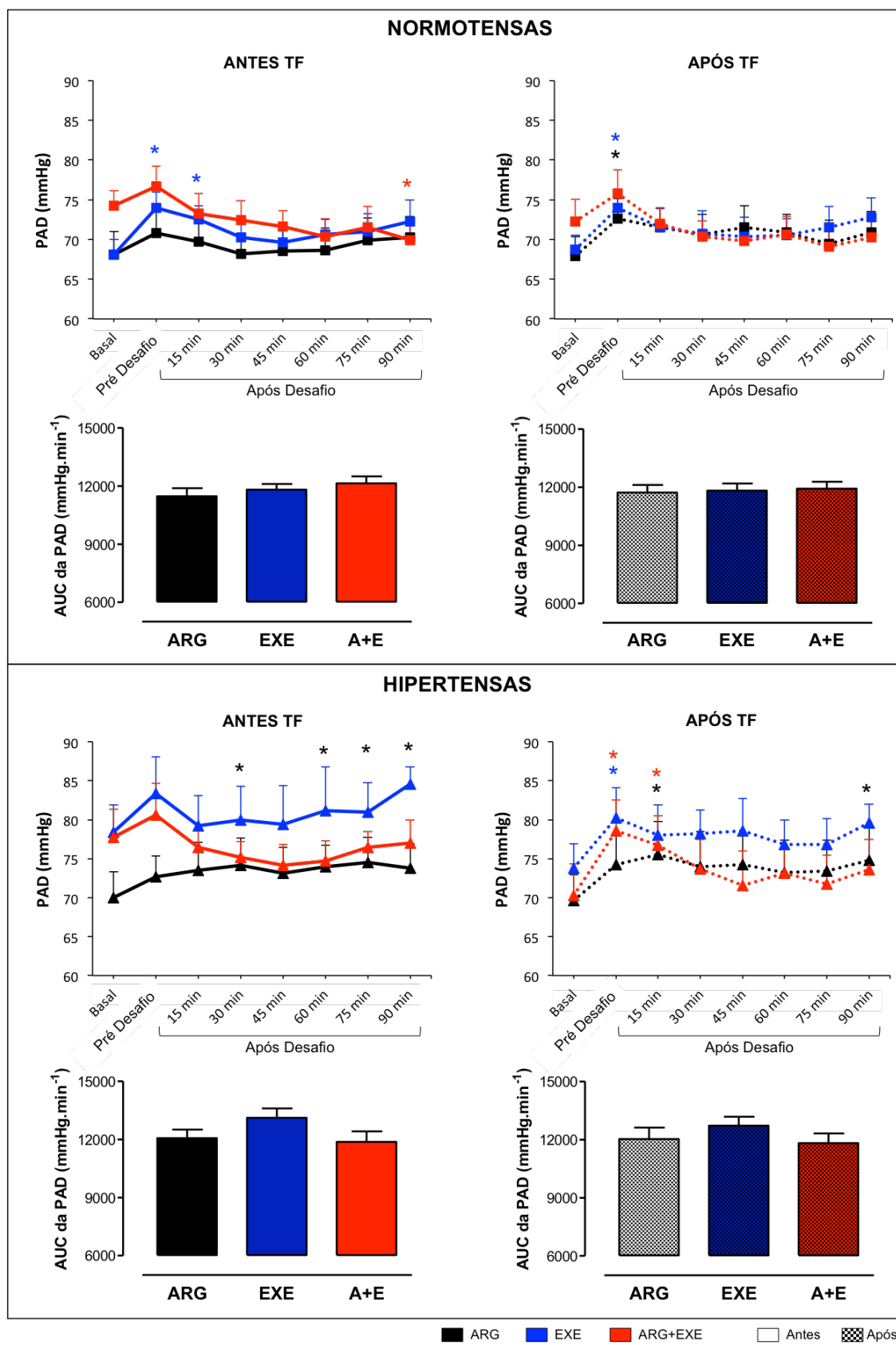


Figura 21. Comportamento da pressão arterial diastólica (PAD) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ vs respectivo basal (Anova medidas repetidas).

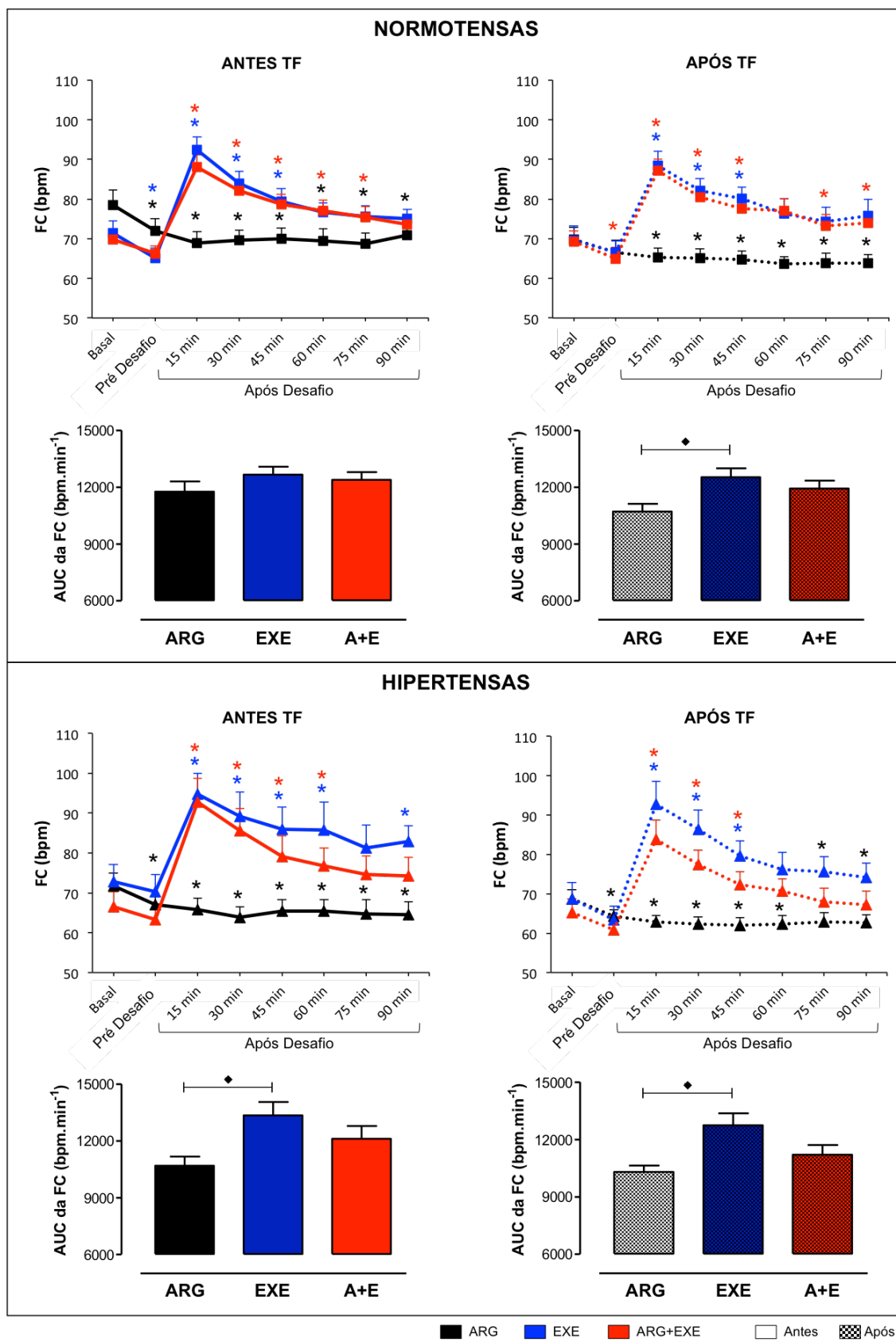


Figura 22. Comportamento da frequência cardíaca (FC) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ vs respectivo basal (Anova medidas repetidas); ♦ $p < 0,05$ (Anova one-way).

14.1.2) Avaliação bioquímica

Além da avaliação cardiovascular, por meio da PA e FC, durante os desafios agudos experimentais também foram realizadas coletas sanguíneas. A figura 23 apresenta os resultados da avaliação da concentração de nitrito/nitrato (NOx^-) durante os desafios agudos. Os níveis de óxido nítrico (NO), analisados indiretamente pela concentração de NOx^- , não se alteraram durante toda a avaliação e foi independente da realização de administração com L-arginina e/ou exercício físico em ambos os grupos, evidenciando que tanto a administração com L-arginina, a realização de exercício físico ou a associação de ambos não são capazes de alterar as concentrações desse marcador durante 90 minutos de avaliação. Além disso, o treinamento físico de 8 semanas não alterou essa resposta.

A análise da AUC do NOx^- mostrou resultados similares para os grupos de mulheres NT e HT, em que os diferentes estímulos (L-arginina, exercício físico e associação de ambos) promovem alterações semelhantes nas concentrações desse biomarcador e o treinamento físico não modifica essa resposta.

Diferentemente do que foi observado em relação ao comportamento do NOx^- , os níveis do segundo mensageiro GMPc foram responsivos ao estímulo com exercício físico, pois os grupos EXE e ARG+EXE promoveram significativo aumento desse marcador 45 minutos após a realização do esforço físico (Figura 24).

Contrariamente, o grupo ARG reduziu significativamente as concentrações de GMPc após a administração com L-arginina. Esse padrão de comportamento do GMPc foi similar para as mulheres NT e HT e se manteve após a conclusão do protocolo de treinamento físico aeróbio.

Apesar de ambos os grupos que realizaram exercício agudo (EXE e ARG+EXE) terem apresentado aumento nas concentrações de GMPc após o estímulo, a análise da AUC mostrou que somente a associação de L-arginina e exercício físico provocou aumento significativo quando comparado com a administração do aminoácido isolado (grupo ARG).

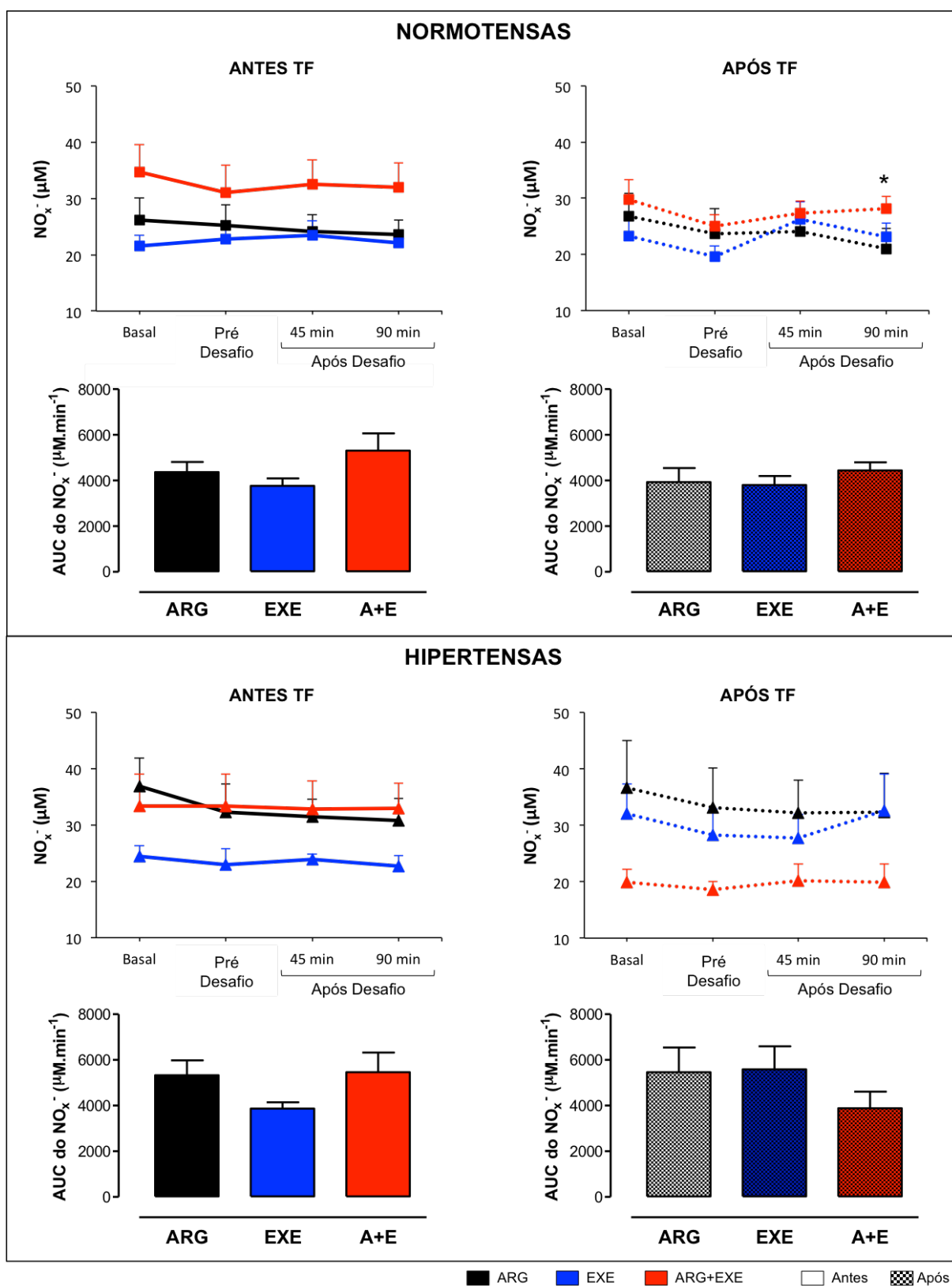


Figura 23. Comportamento do nitrito/nitrato (NO_x^-) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ vs respectivo basal (Anova medidas repetidas).

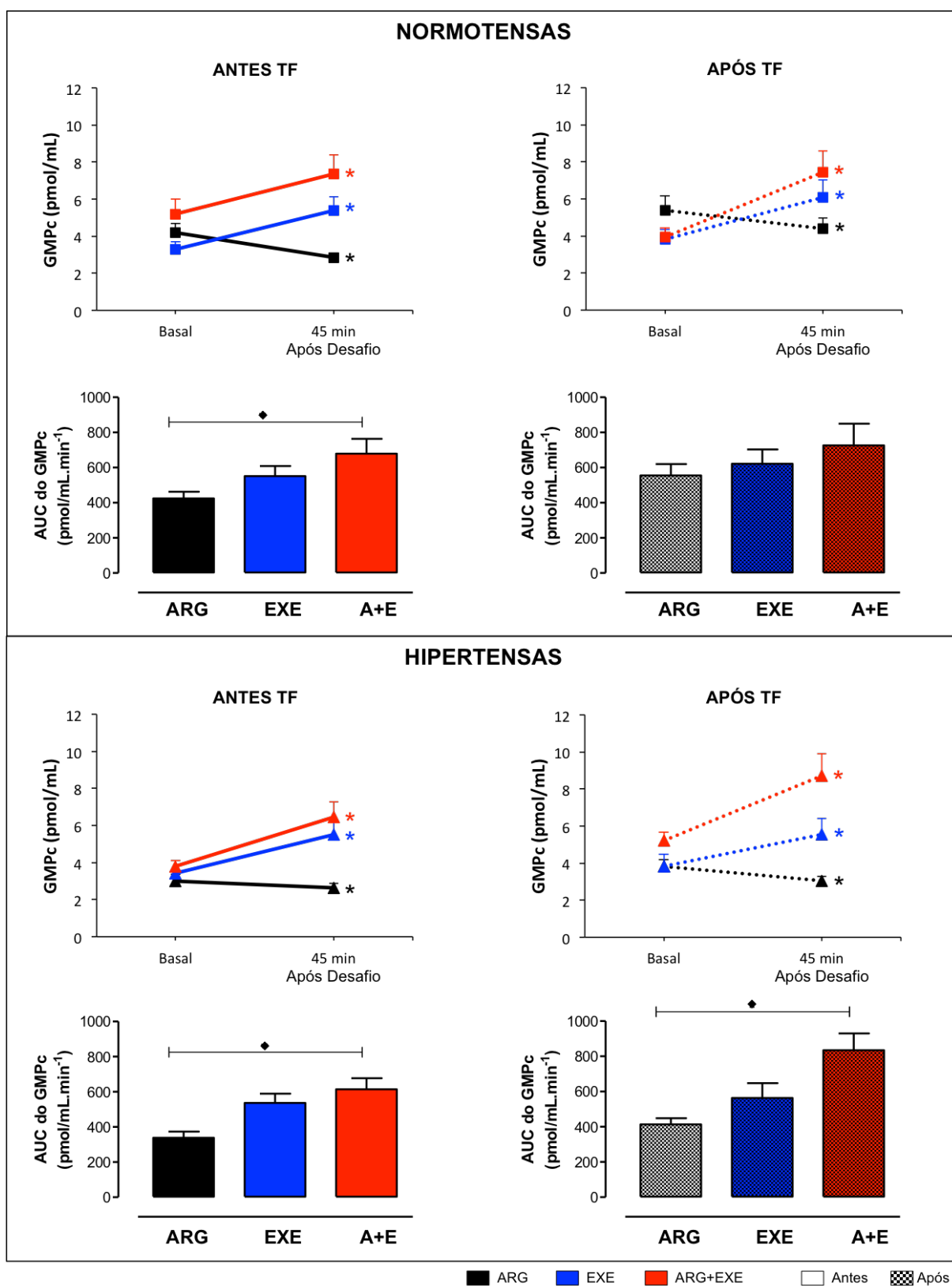


Figura 24. Comportamento da guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ vs respectivo basal (Anova medidas repetidas); ♦ $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

Interessantemente, os níveis do hormônio esteróide cortisol reduziram significativamente 45 minutos após o exercício físico nos grupos ARG e EXE nas mulheres normotensas, tanto antes quanto após o protocolo de treinamento físico aeróbio (Figura 25). O grupo que associou a L-arginina e o exercício físico (ARG+EXE) não promoveu alterações nas concentrações desse glicocorticóide.

Diferente das NT, nas mulheres hipertensas, os níveis de cortisol foram significativamente diminuídos 45 minutos após a administração com L-arginina isolada (grupo ARG) e quando o aminoácido foi associado com exercício físico aeróbio (grupo ARG+EXE). O exercício físico agudo (grupo EXE) não foi capaz de promover alterações significativas nas concentrações desse hormônio. Esse resultado também foi observado após o treinamento físico de 8 semanas.

Curiosamente, por meio de Anova *one-way* foi possível encontrar uma diferença significativa entre os grupos no momento basal, em que o grupo de normotensas que foi desafiado com L-arginina (grupo ARG) apresentou maiores concentrações de cortisol quando comparado aos outros grupos (EXE e ARG+EXE) após o treinamento físico. Enquanto que no grupo de hipertensas que foi desafiado com a combinação entre L-arginina e exercício (grupo ARG+EXE) mostrou maiores concentrações de cortisol quando comparado aos outros grupos (ARG e EXE) antes de iniciar o protocolo de treinamento físico aeróbio.

Ainda na figura 25, a análise da AUC do comportamento do cortisol mostrou que os diferentes estímulos (L-arginina, exercício físico e associação de ambos) promoveram alterações similares nas concentrações desse biomarcador e o treinamento físico não modificou essa resposta.

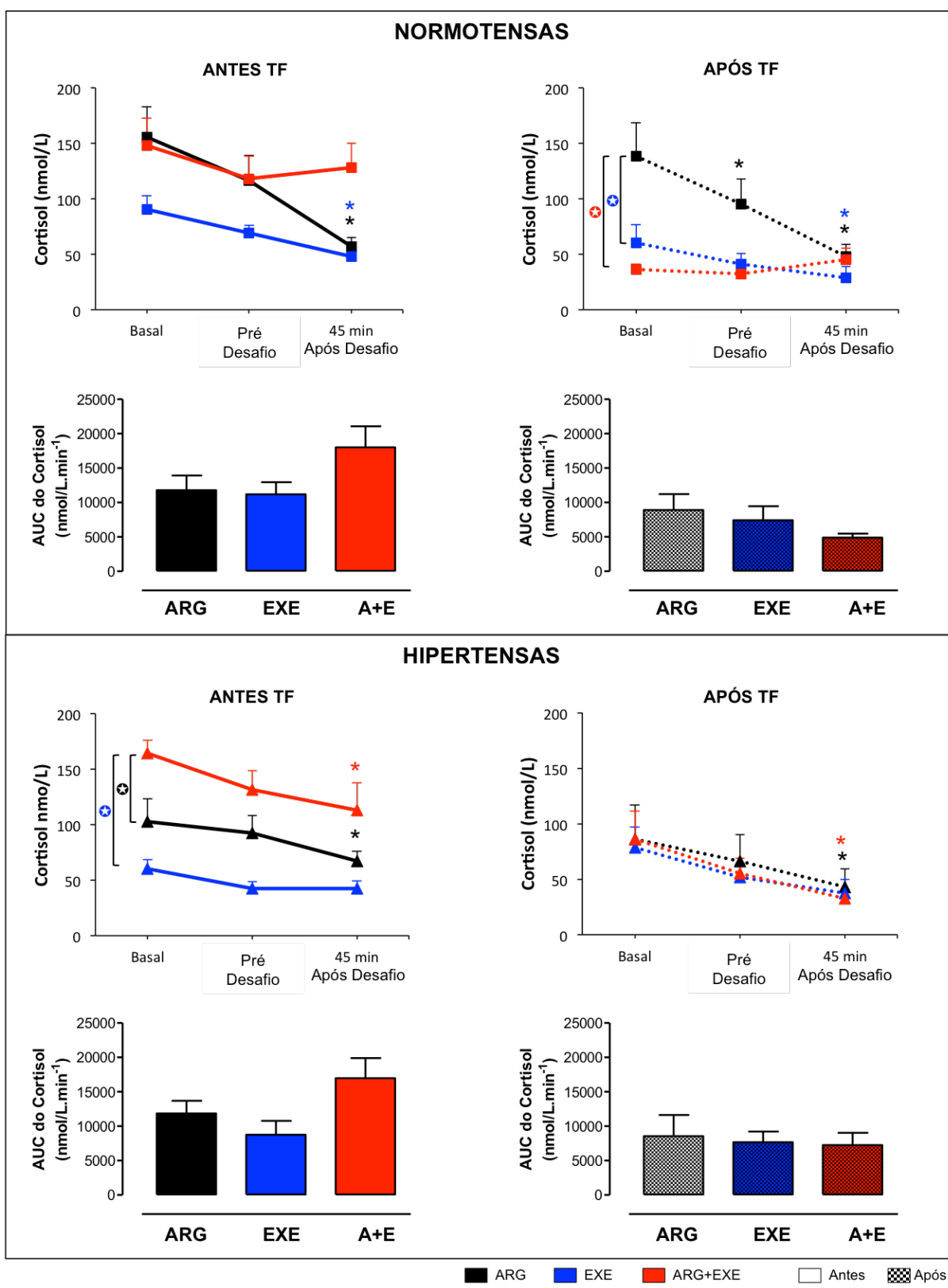


Figura 25. Comportamento do cortisol e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. ★ $p < 0,05$ entre basais (Anova *one-way*); * $p < 0,05$ vs respectivo basal (Anova medidas repetidas).

14.1.3) Avaliação ambulatorial da PA e FC

Finalizados os procedimentos no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Atividade Física da Unesp – Rio Claro, aparelhos ambulatoriais de medição da pressão arterial (MAPA) foram instalados nas voluntárias e retirados 24 horas após a colocação. O aparelho registrou a pressão arterial a cada 15 minutos durante o dia (período de vigília) e a cada 30 minutos durante a noite (período de sono). O período de vigília foi considerado a partir de 11:00 horas após o fim dos procedimentos dos desafios agudos experimentais e o período do sono foi considerado entre 23:00 e 7:00 horas. Todas as voluntárias foram instruídas a manterem suas atividades habituais, não praticarem atividade física durante o uso do aparelho e preencherem um recordatório sobre as atividades realizadas no dia do exame.

Dados do comportamento da PAS, PAD e FC durante uso do MAPA são apresentados nas Figuras 26, 28 e 30, respectivamente.

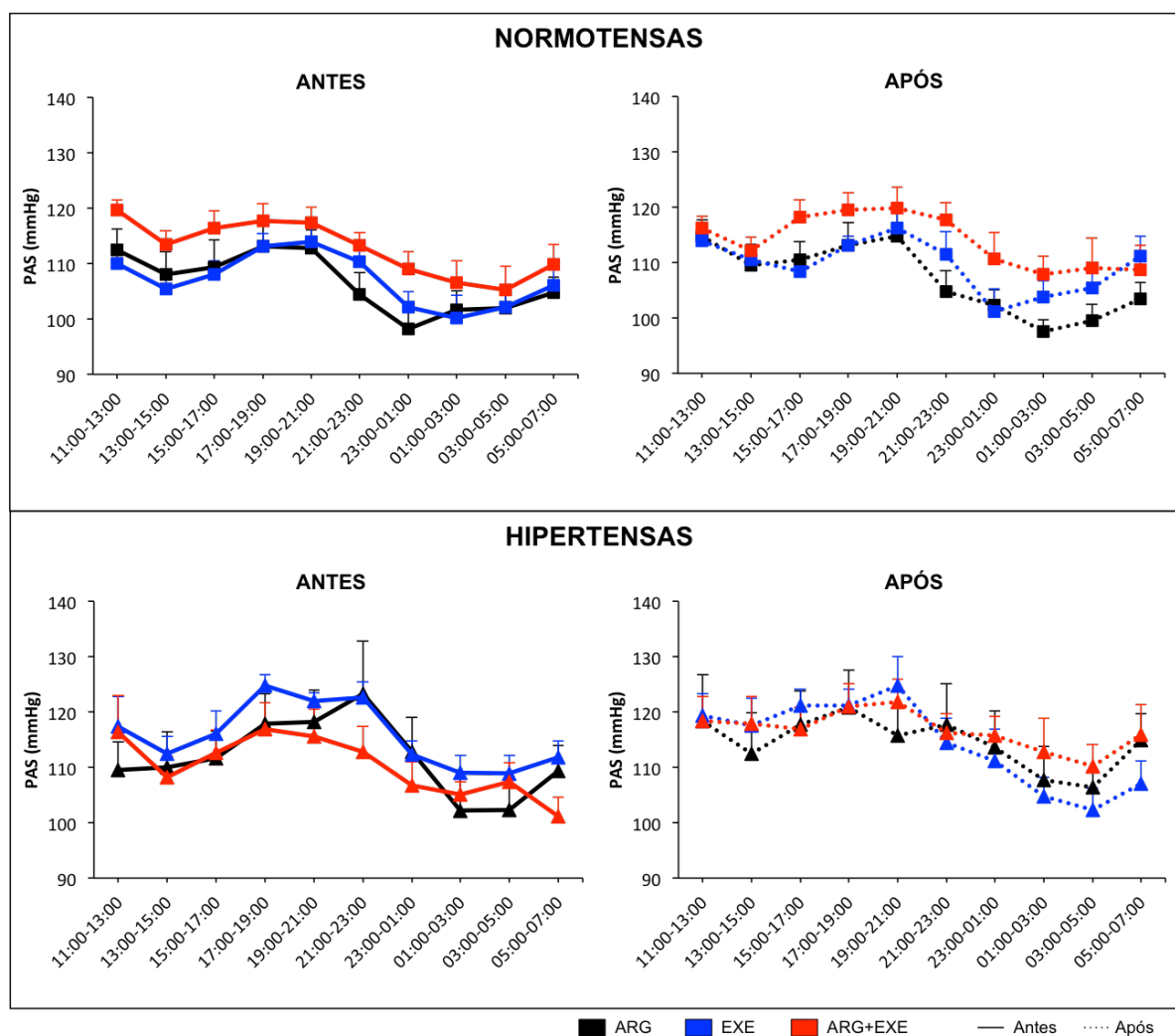


Figura 26. Comportamento da pressão arterial sistólica (PAS) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas.

A análise da média da PAS e PAD por meio de Anova *one-way* não apontou diferenças entre os desafios agudos experimentais, tanto para normotensas quanto para hipertensas, mostrando que o estímulo com administração de L-arginina e/ou exercício físico não provocam diferentes alterações na pressão arterial dessas mulheres (Figuras 27 e 29). Esse resultado foi encontrado durante o período de vigília, o período de sono e também no total da avaliação. O programa de treinamento físico aeróbio não modificou essa resposta.

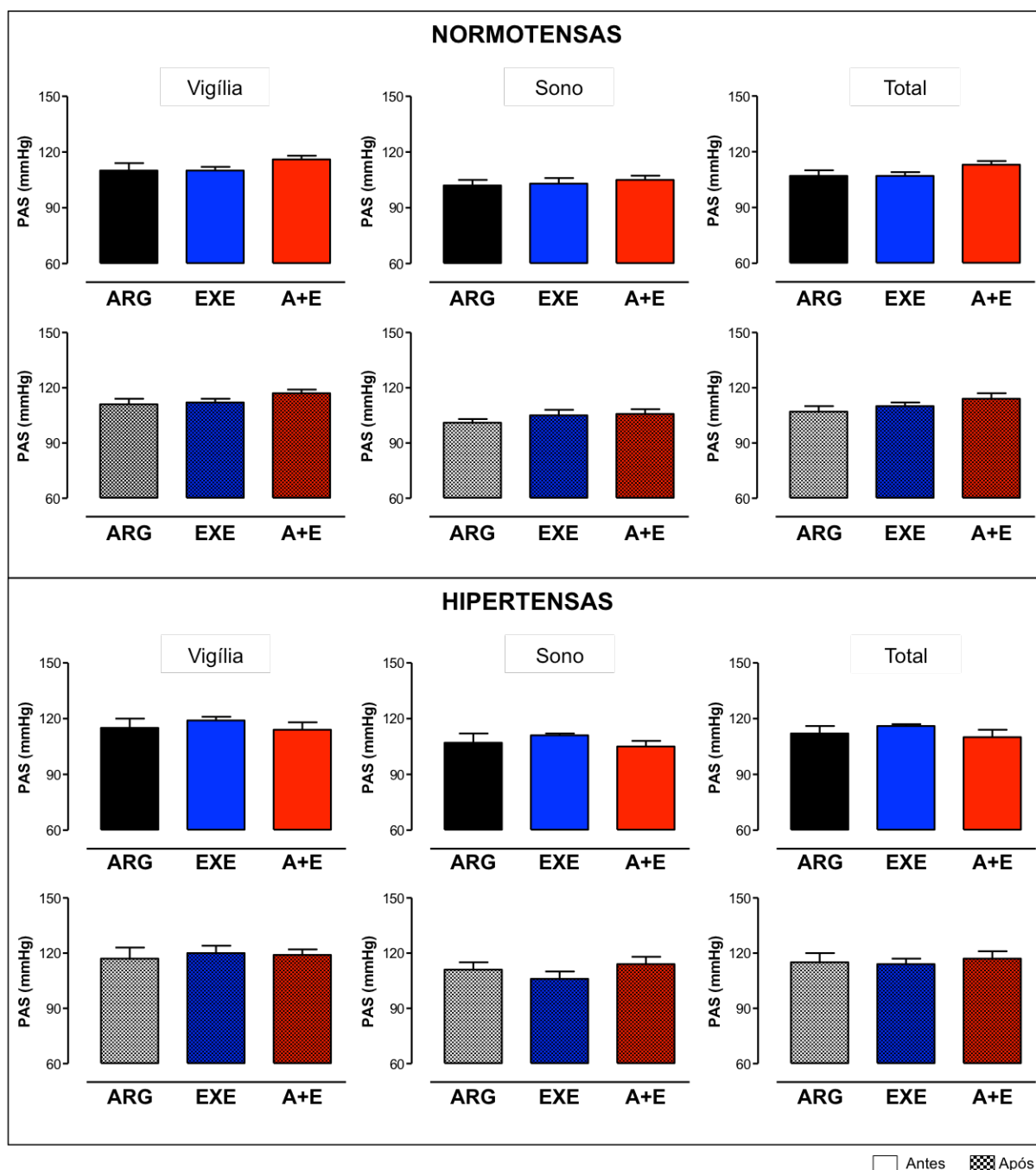


Figura 27. Média da pressão arterial sistólica (PAS) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas nos momentos de vigília, sono e total.

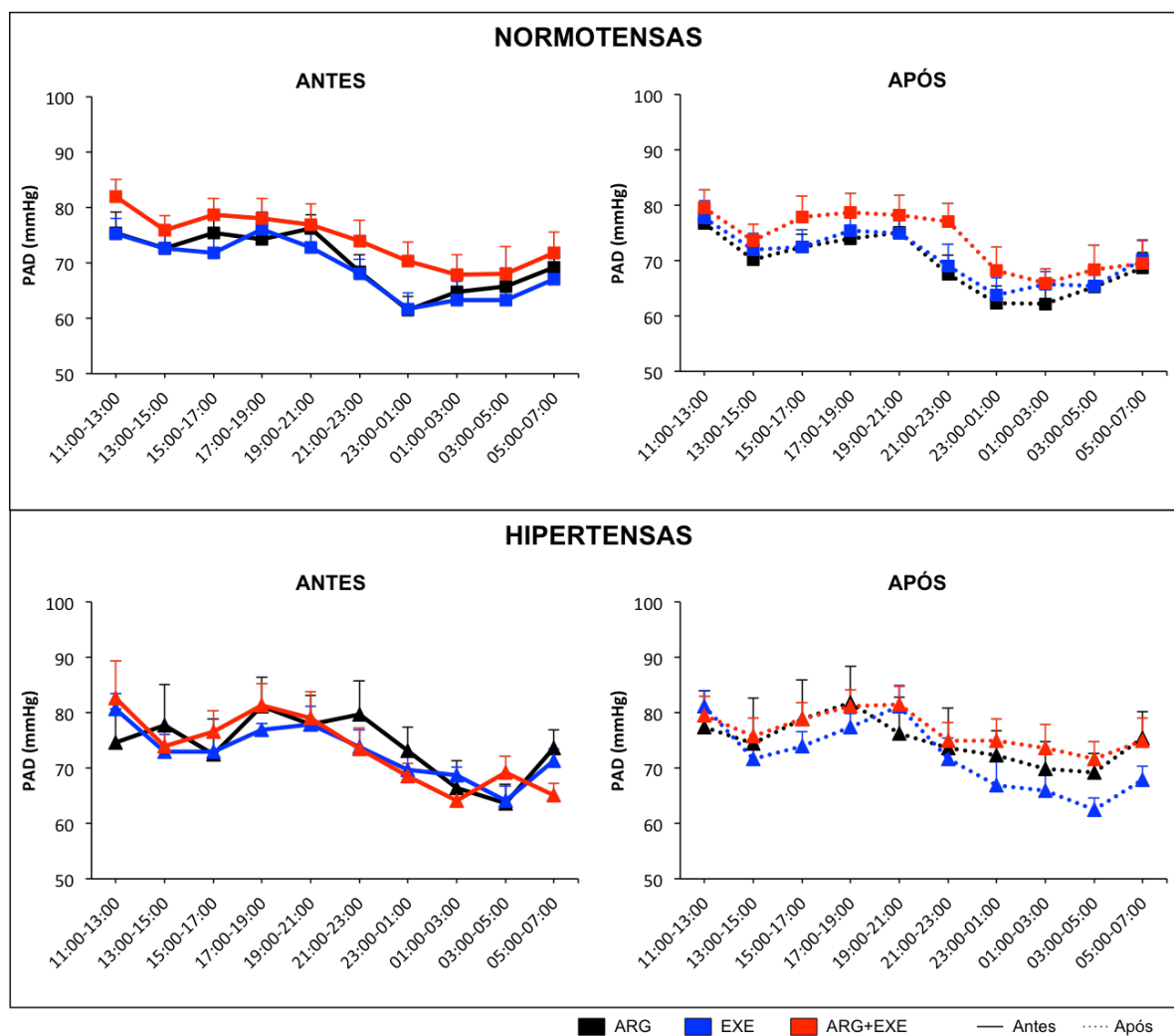


Figura 28. Comportamento da pressão arterial diastólica (PAD) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas.

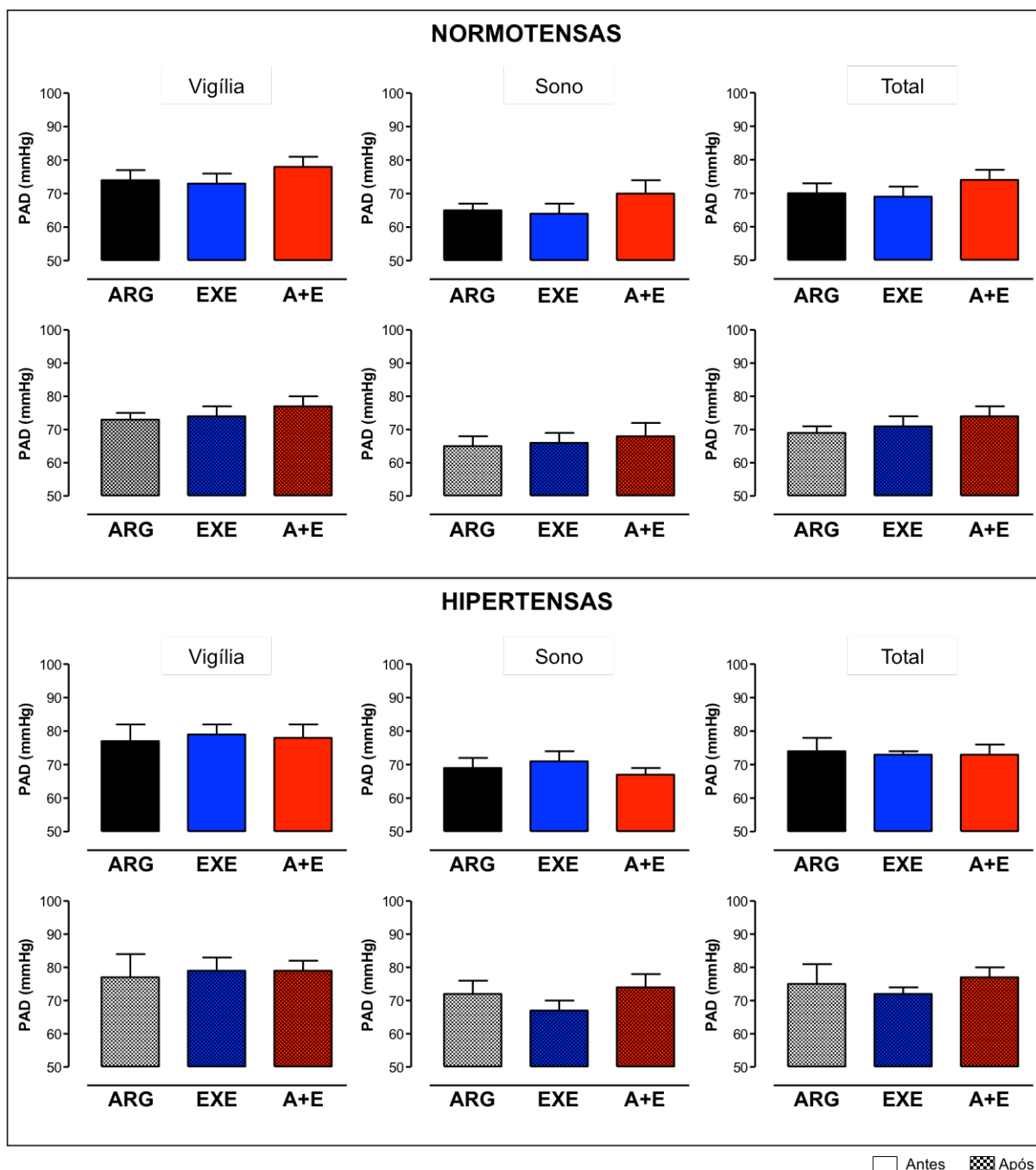


Figura 29. Média da pressão arterial diastólica (PAD) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas nos momentos de vigília, sono e total.

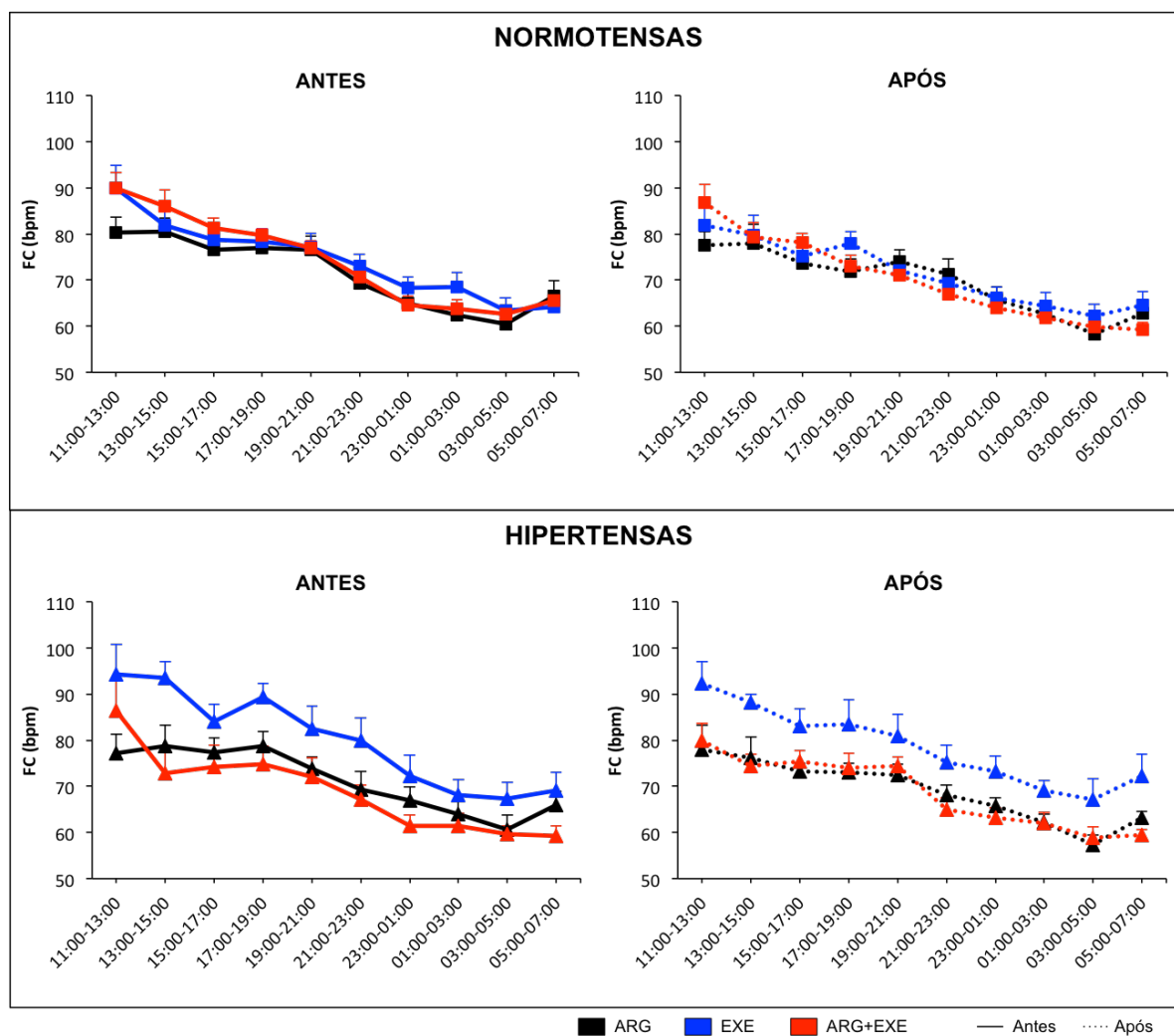


Figura 30. Comportamento da frequência cardíaca (FC) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas.

Na figura 31 são apresentadas as médias da FC durante os períodos de vigília, sono e total. Para as voluntárias normotensas, a média da FC não se mostrou diferente entre os desafios agudos experimentais. Por outro lado, a média da FC durante o período de sono e total das mulheres hipertensas esteve aumentada após a realização aguda de exercício físico aeróbio (grupo EXE) depois de concluir as 8 semanas de treinamento físico.

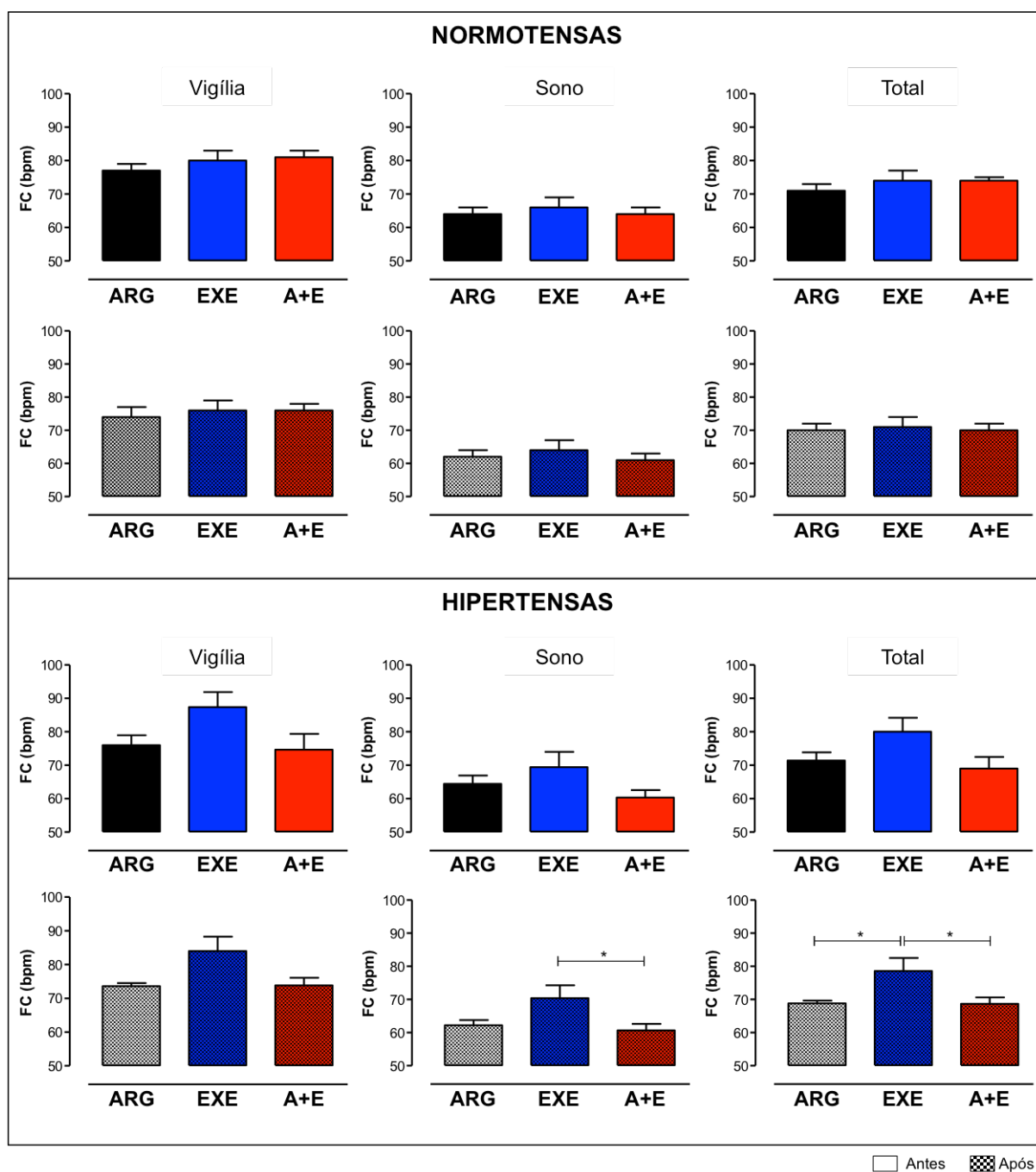


Figura 31. Média da frequência cardíaca (FC) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas nos momentos de vigília, sono e total. * $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

O cálculo da variabilidade da PAS e PAD (ARV) mostrou que os estímulos com administração de L-arginina, exercício físico agudo e a associação de ambos promovem alterações similares nesses parâmetros (Figuras 32 e 33). Esse resultado foi visto nos grupos de mulheres normotensas e hipertensas. O treinamento físico de 8 semanas, por sua vez, não modificou essa resposta.

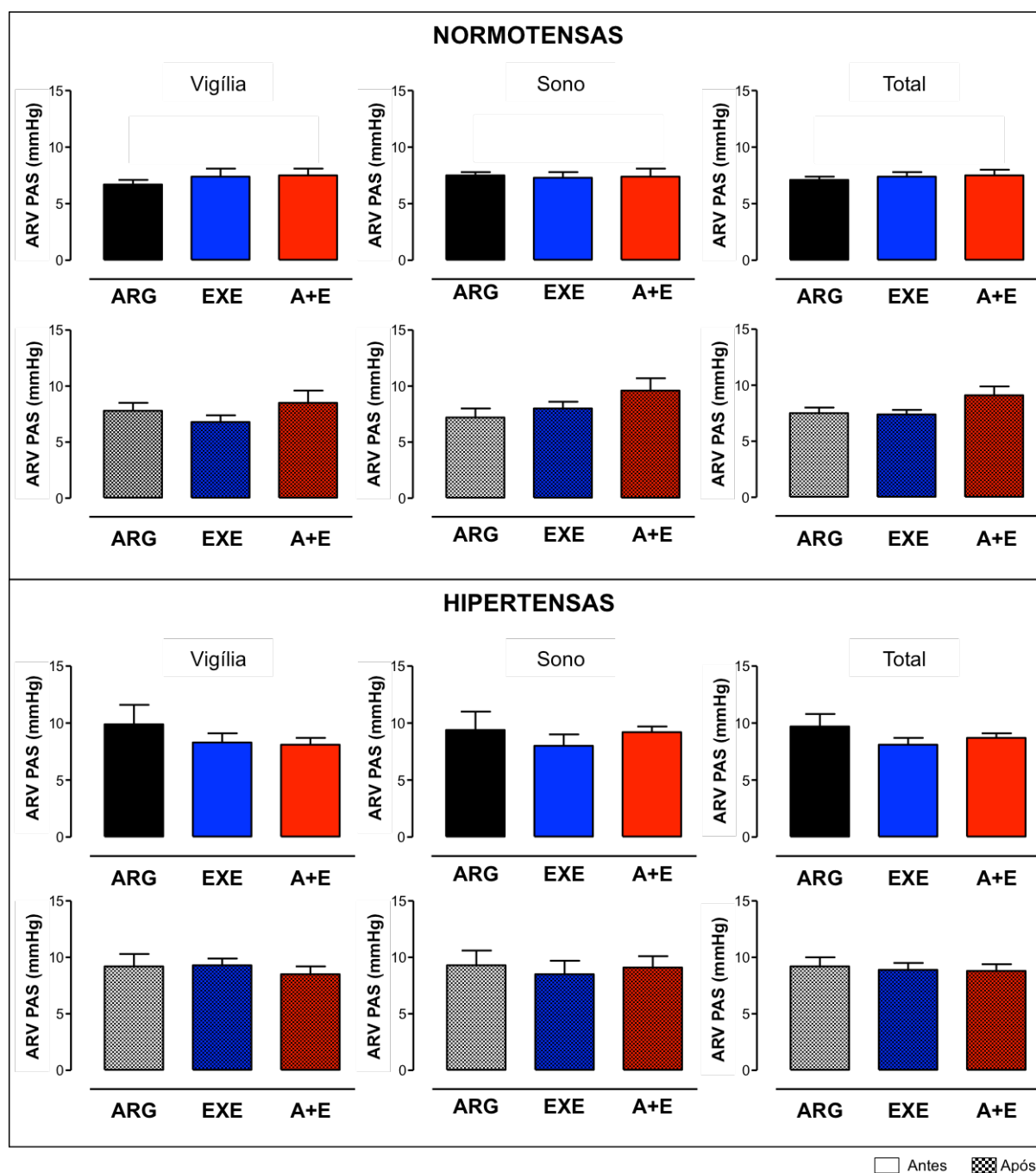


Figura 32. Variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas.

14.2) Comparação entre os desafios

14.2.1) Avaliação cardiovascular

Para comparar o comportamento dos parâmetros analisados após os estímulos com administração de L-arginina, exercício físico e a associação de ambos, foi escolhido o cálculo da área abaixo da curva da variação em relação ao basal e Anova *one-way* para buscar as diferenças entre os grupos. Dessa forma, o objetivo foi investigar se os diferentes estímulos provocaram alterações da mesma magnitude.

Na figura 34 são apresentadas a AUC da variação da PAS em todos os grupos. Para as mulheres normotensas, antes de iniciar o programa de treinamento físico, os estímulos provocaram as mesmas alterações nesse parâmetro. No entanto, após as 8 semanas de treinamento físico, a associação de L-arginina e exercício físico (grupo ARG+EXE) provocou maior redução de PAS quando comparada com os outros grupos (ARG e EXE), mostrando que o treinamento físico potencializou o efeito da associação dos estímulos nas mulheres normotensas.

Nas mulheres hipertensas, tanto antes quanto após o treinamento físico, o grupo que realizou a administração com L-arginina isolada promoveu aumento da PAS quando comparado aos grupos que realizaram exercício físico agudo (EXE e ARG+EXE), sugerindo que a administração de L-arginina em mulheres hipertensas poderia provocar aumento de PAS durante 90 minutos.

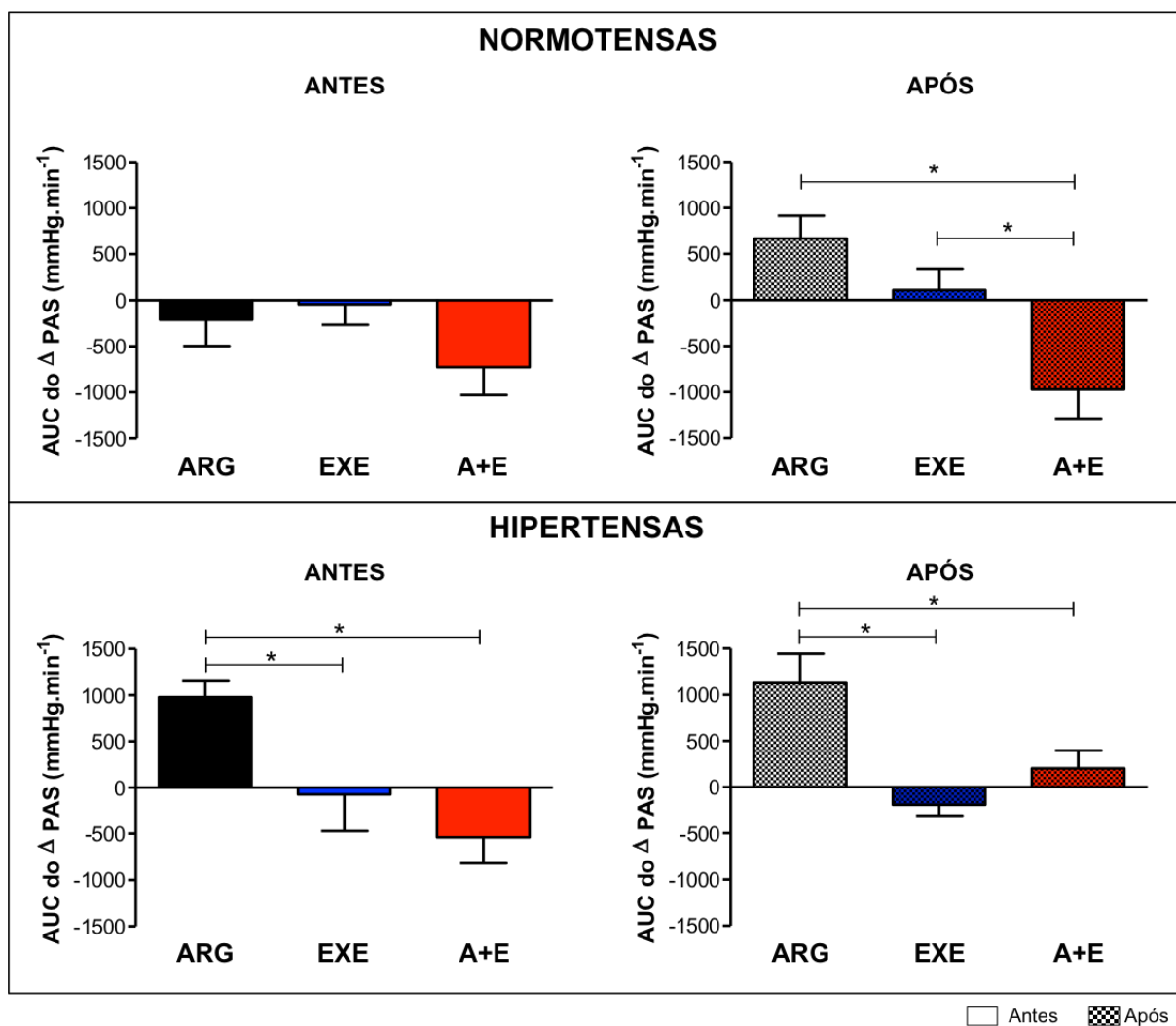


Figura 34. Área abaixo da curva (AUC) da variação da pressão arterial sistólica (PAS) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

Na figura 35, o cálculo da AUC do comportamento da PAD das mulheres normotensas indicou que antes de iniciar o treinamento físico, a realização aguda de exercício físico (grupo EXE) promove aumento de PAD durante 90 minutos quando comparada à associação de L-arginina e exercício físico (grupo ARG+EXE). No entanto, após as 8 semanas de treinamento físico, as alterações provocadas pelos diferentes estímulos foram de magnitude similar.

Em se tratando das mulheres pós-menopausadas hipertensas, a AUC da variação da PAD não indicou diferenças entre os grupos, mostrando que os desafios com L-arginina e exercício físico promovem alterações similares na PAD dessa população.

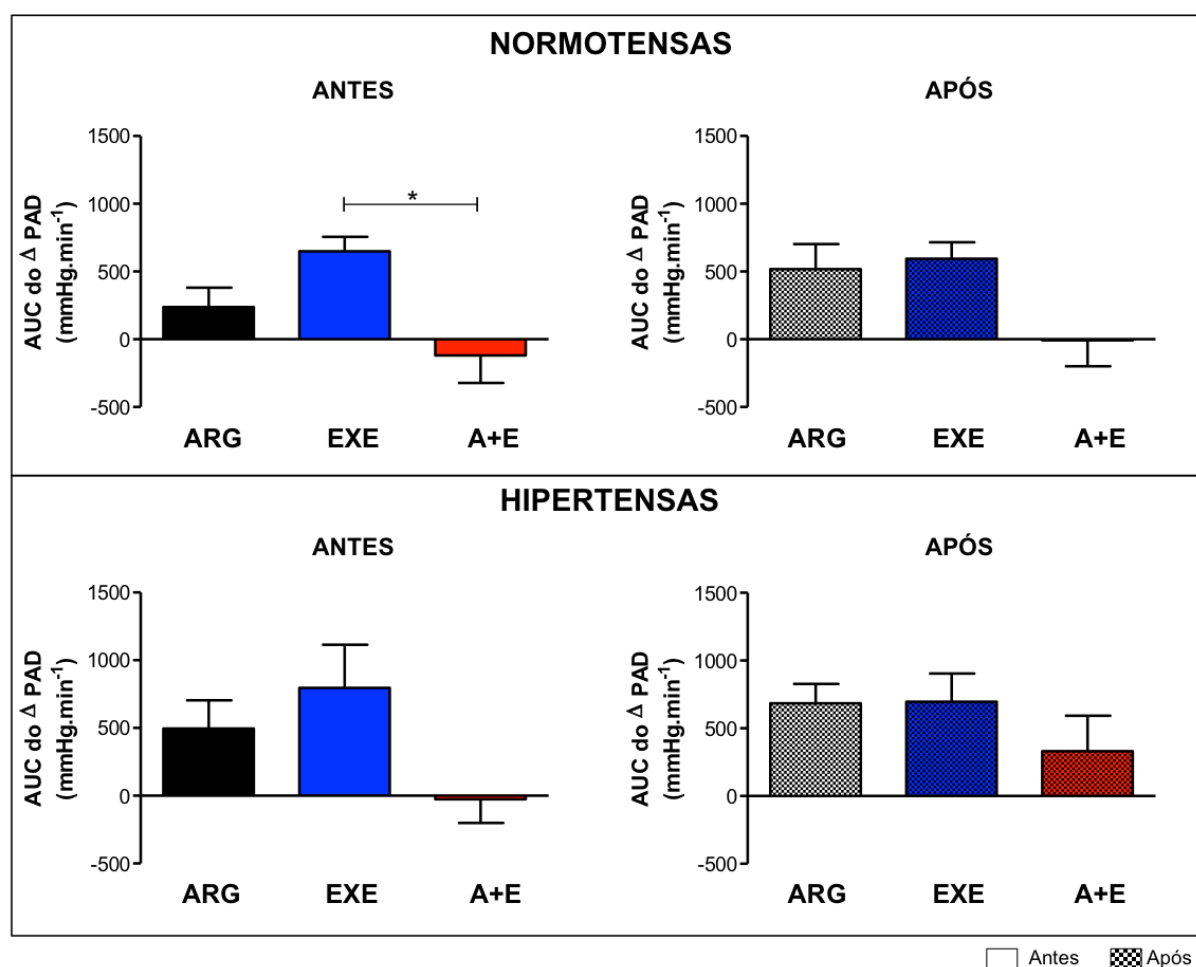


Figura 35. Área abaixo da curva (AUC) da variação da pressão arterial diastólica (PAD) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

Na figura 36, o cálculo da AUC da variação da FC confirma que os grupos que realizaram exercício físico, associado ou não com L-arginina (EXE e ARG+EXE) mantiveram a FC aumentada durante todo o período de avaliação, quando comparados com o grupo que realizou administração de L-arginina de maneira isolada. Esse comportamento é observado tanto no grupo de mulheres NT quanto HT.

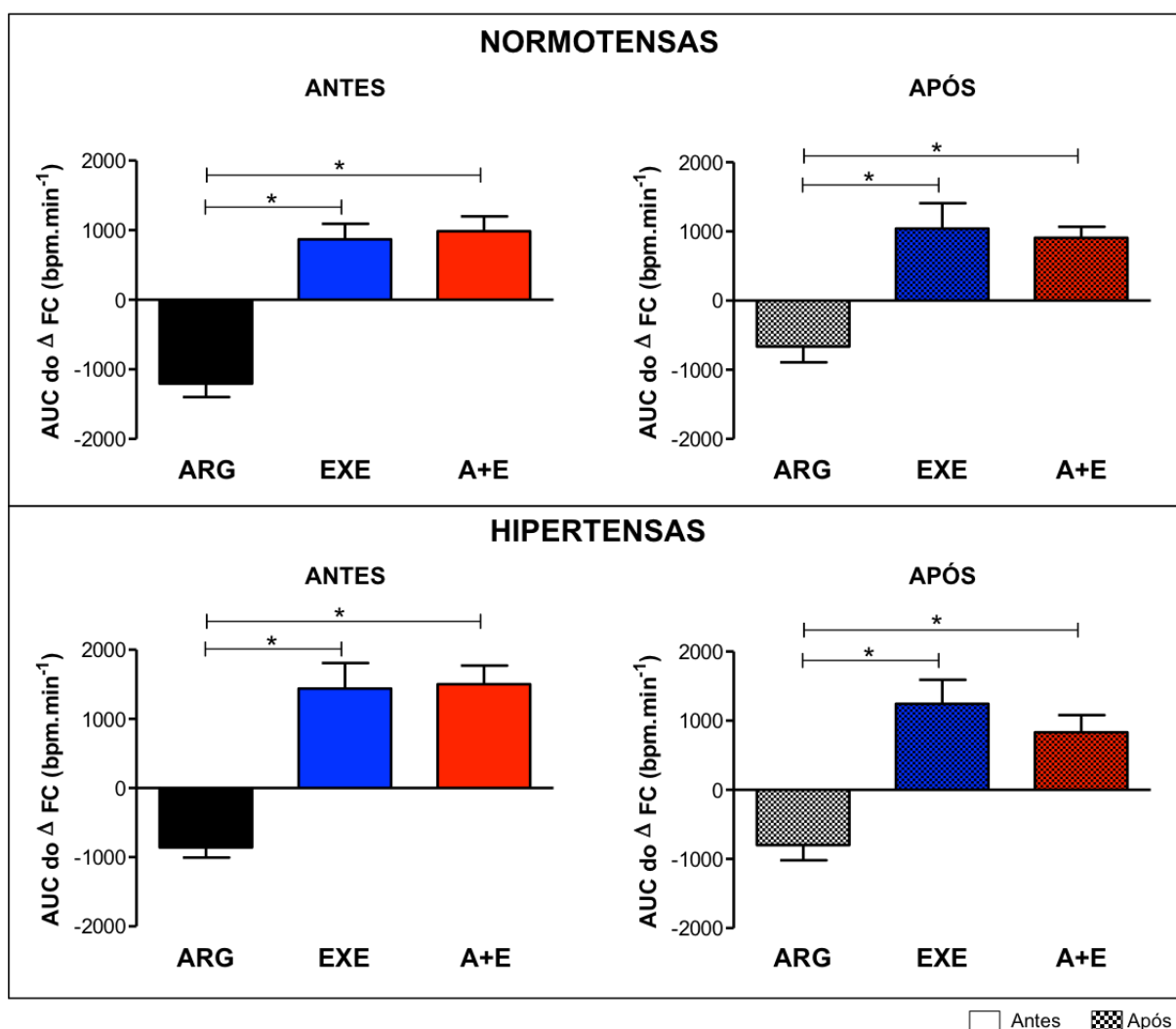


Figura 36. Área abaixo da curva (AUC) da variação da frequência cardíaca (FC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

14.2.2) Avaliação bioquímica

A análise da AUC do NO_x^- mostrou resultados diferentes para os grupos NT e HT (Figura 37). Para as mulheres normotensas, o exercício físico realizado de maneira isolada (grupo EXE) promoveu aumento das concentrações de nitrito/nitrato quando comparado a administração de L-arginina associada ao exercício físico (grupo ARG+EXE), que reduziu os níveis desse biomarcador. Enquanto que para as mulheres hipertensas, a administração isolada do aminoácido L-arginina (grupo ARG) promoveu redução de maior magnitude da AUC do NO_x^- . Entretanto, após concluir as 8 semanas de treinamento físico não foram encontradas diferenças entre os desafios agudos experimentais tanto no grupo NT quanto no grupo HT.

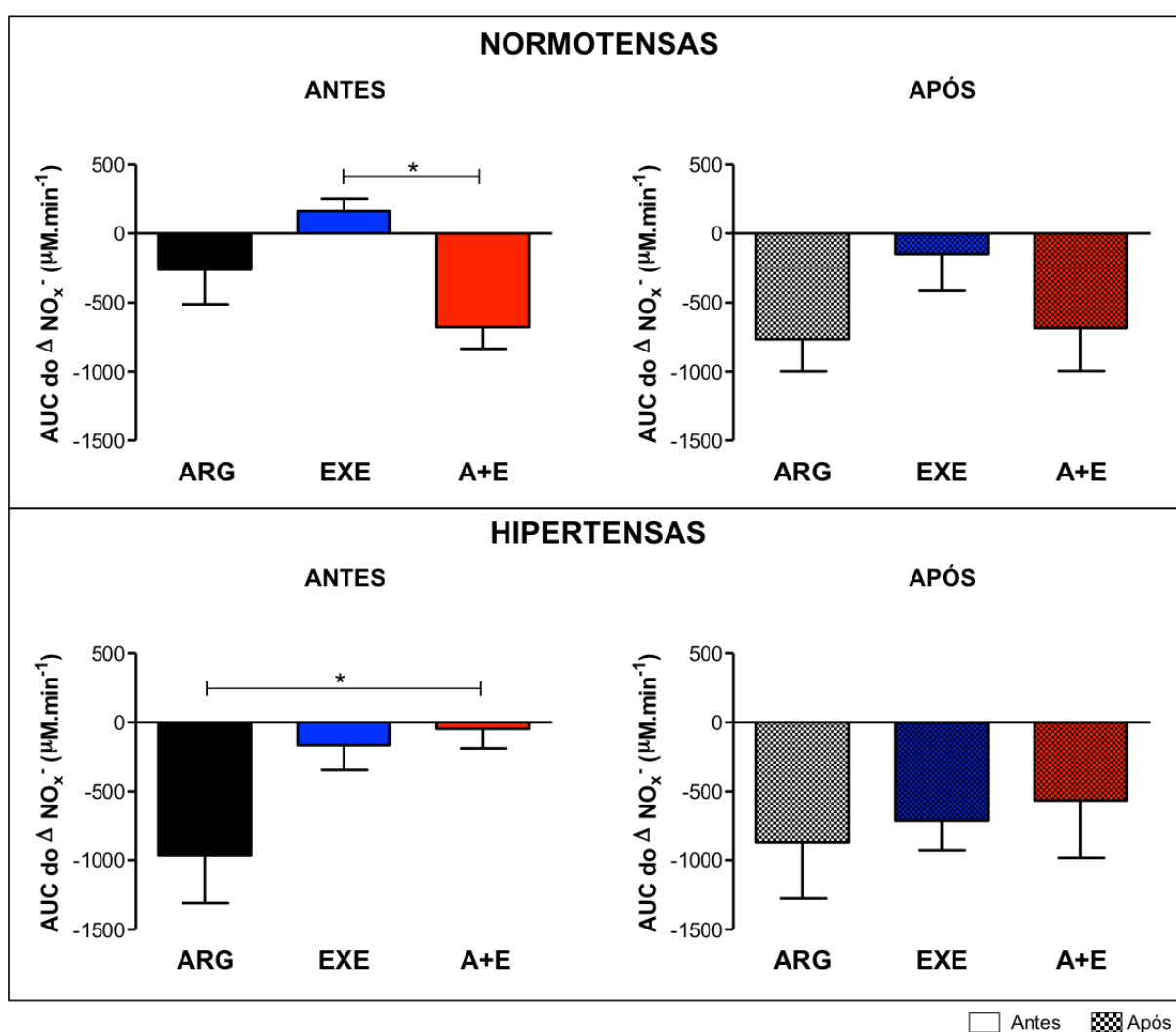


Figura 37. Área abaixo da curva (AUC) da variação do nitrito/nitrato (NO_x^-) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

Acompanhando os resultados obtivos por meio da análise ponto a ponto, o cálculo da AUC do comportamento do GMPc durante o desafio agudo mostrou que o exercício físico agudo *per se* promoveu aumento significativo nos níveis plasmáticos de GMPc independente da associação com o aminoácido, observado nos grupos EXE e ARG+EXE (Figura 38). A administração com L-arginina de maneira isolada reduziu significativamente a concentração de GMPc no grupo ARG. Essa resposta foi observada no grupo de mulheres NT e HT e o treinamento físico não modificou esse resultado.

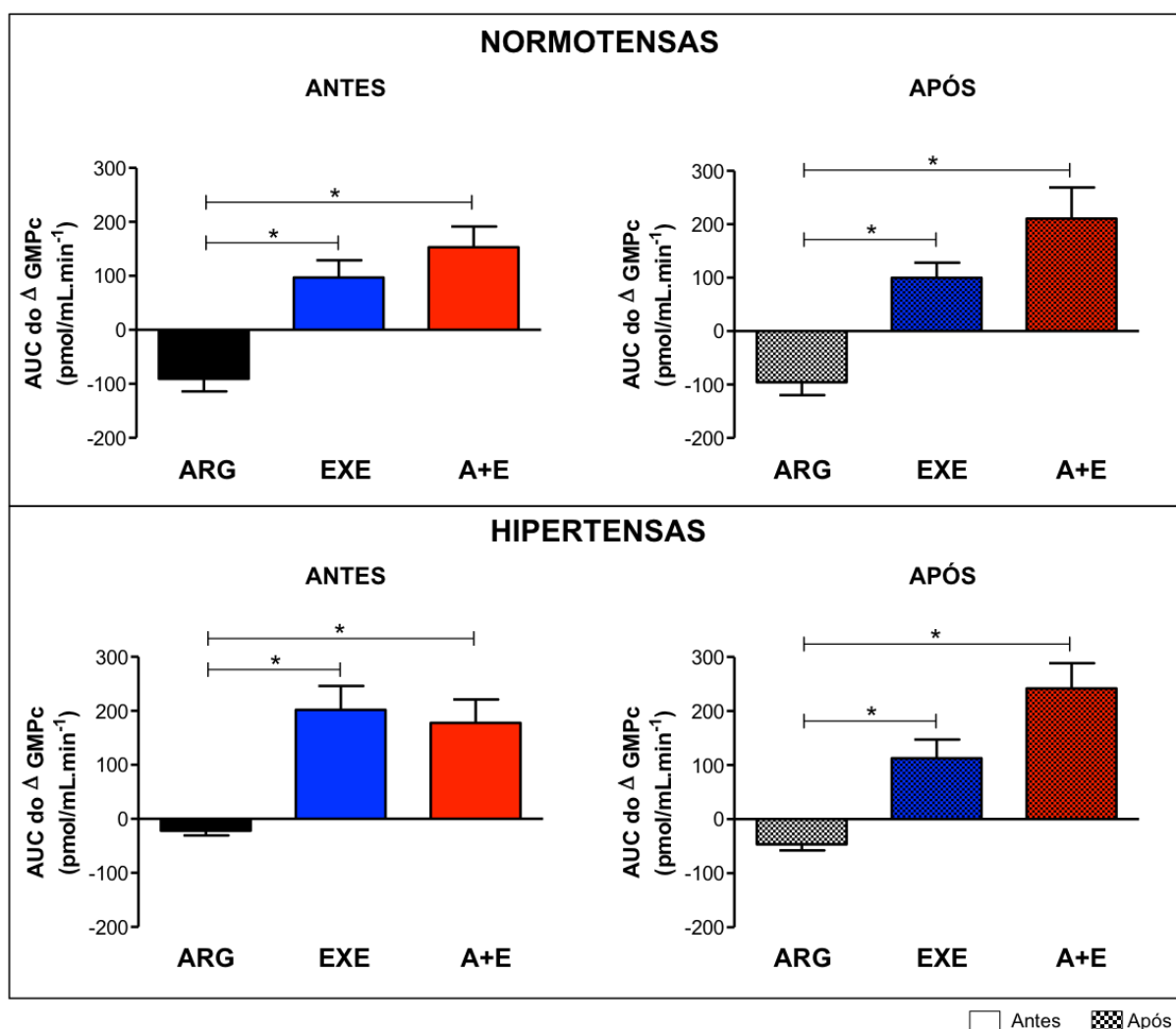


Figura 38. Área abaixo da curva (AUC) da variação da guanosina monofosfato cíclico (GMPc) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

Para o grupo de mulheres normotensas, a análise da AUC do comportamento do cortisol mostrou que o grupo que associou o aminoácido e o exercício físico (grupo ARG+EXE) apresentou níveis aumentados desse glicocorticóide durante o desafio quando comparado ao grupo ARG após o programa de treinamento físico (Figura 39). Para as voluntárias hipertensas, não foram observadas diferenças entre os desafios em relação aos níveis do glicocorticóide.

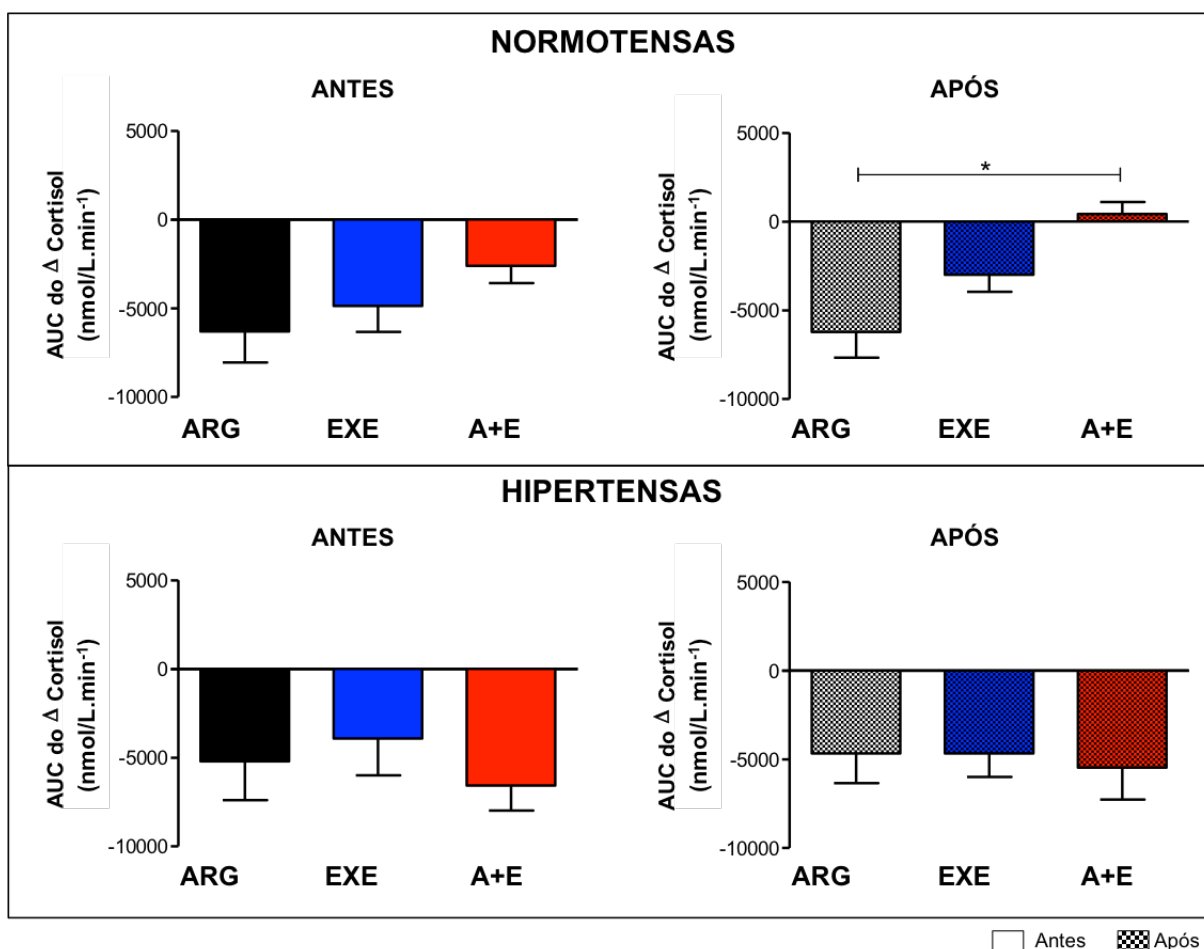


Figura 39. Área abaixo da curva (AUC) da variação do cortisol durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Anova *one-way*).

14.3) Comparação entre normotensas e hipertensas

14.3.1) Avaliação cardiovascular

Para avaliar se os estímulos (L-arginina, exercício físico e associação de ambos) promoveram diferentes alterações entre as mulheres pós-menopausadas normotensas e hipertensas, foi realizado Anova *two-way* da AUC da variação dos parâmetros avaliados. Dessa forma, o objetivo foi comparar se NT e HT respondem na mesma magnitude frente aos estímulos e se o treinamento físico aeróbio de 8 semanas modifica os parâmetros avaliados de maneira similar entre NT e HT.

De acordo com os dados apresentados na figura 40, o estímulo com L-arginina (grupo ARG) promoveu aumento na variação da PAS das mulheres HT quando comparadas com as NT no desafio agudo realizado antes do treinamento físico de 8 semanas. Por outro lado, após o programa de treinamento, o grupo de mulheres NT que associou L-arginina e exercício físico (grupo ARG+EXE) teve redução significativa de PAS quando comparada com as HT.

Pressão arterial diastólica e frequência cardíaca não foram diferentes entre as mulheres NT e HT, independente do desafio agudo experimental realizado. Esse resultado se manteve após o programa de treinamento físico.

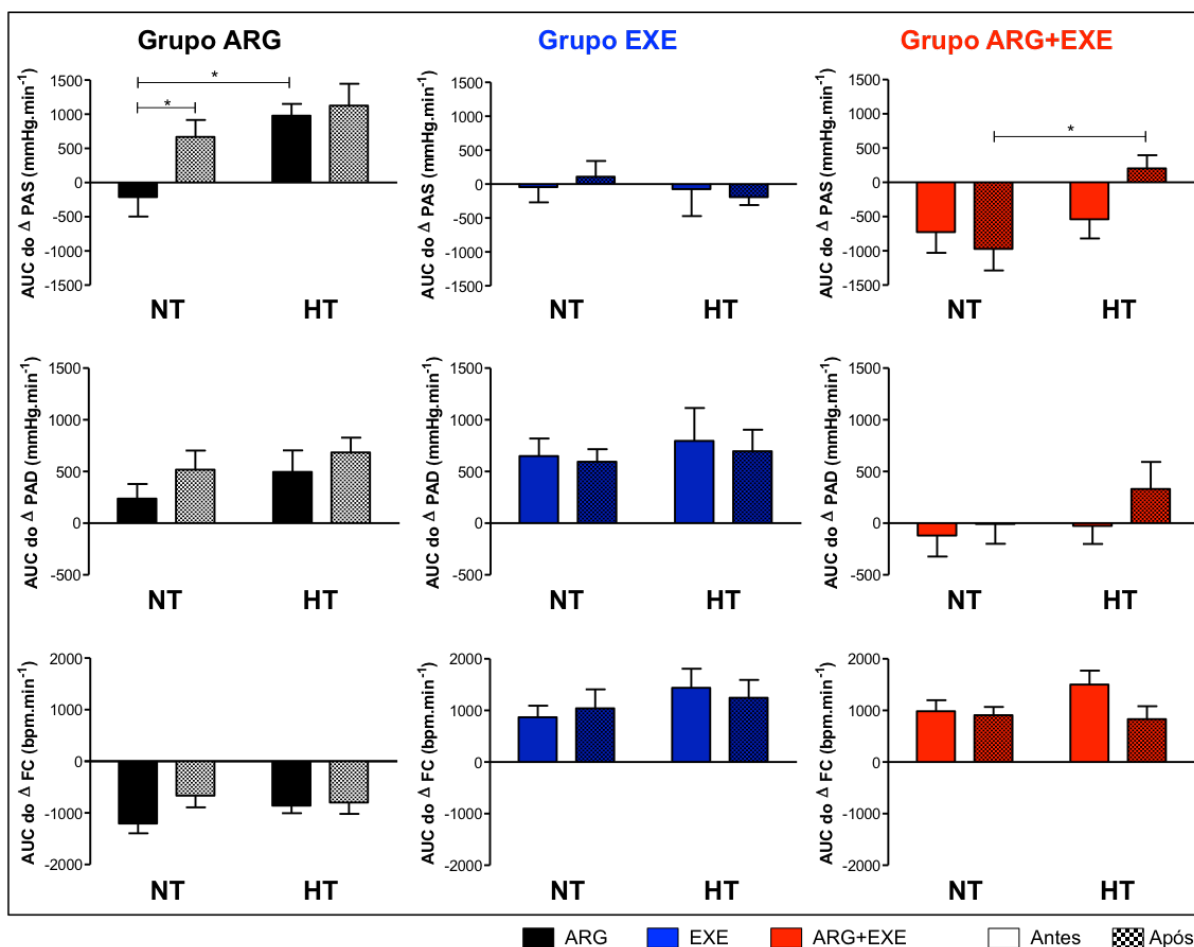


Figura 40. Área abaixo da curva (AUC) da variação da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Anova *two-way*).

14.3.2) Avaliação bioquímica

Em relação à avaliação bioquímica, as análises dos níveis de nitrito/nitrato foram similares entre NT e HT, tanto antes quanto após concluir as 8 semanas de treinamento físico (Figura 41). No entanto, antes de dar início ao programa de treinamento físico, a administração de L-arginina (grupo ARG) promoveu redução significativa de GMPC nas mulheres normotensas quando comparadas com as HT.

Enquanto que, em se tratando do hormônio cortisol, a associação de L-arginina e exercício (grupo ARG+EXE) promoveu redução significativa do glicocorticóide nas mulheres hipertensas após o treinamento físico de 8 semanas.

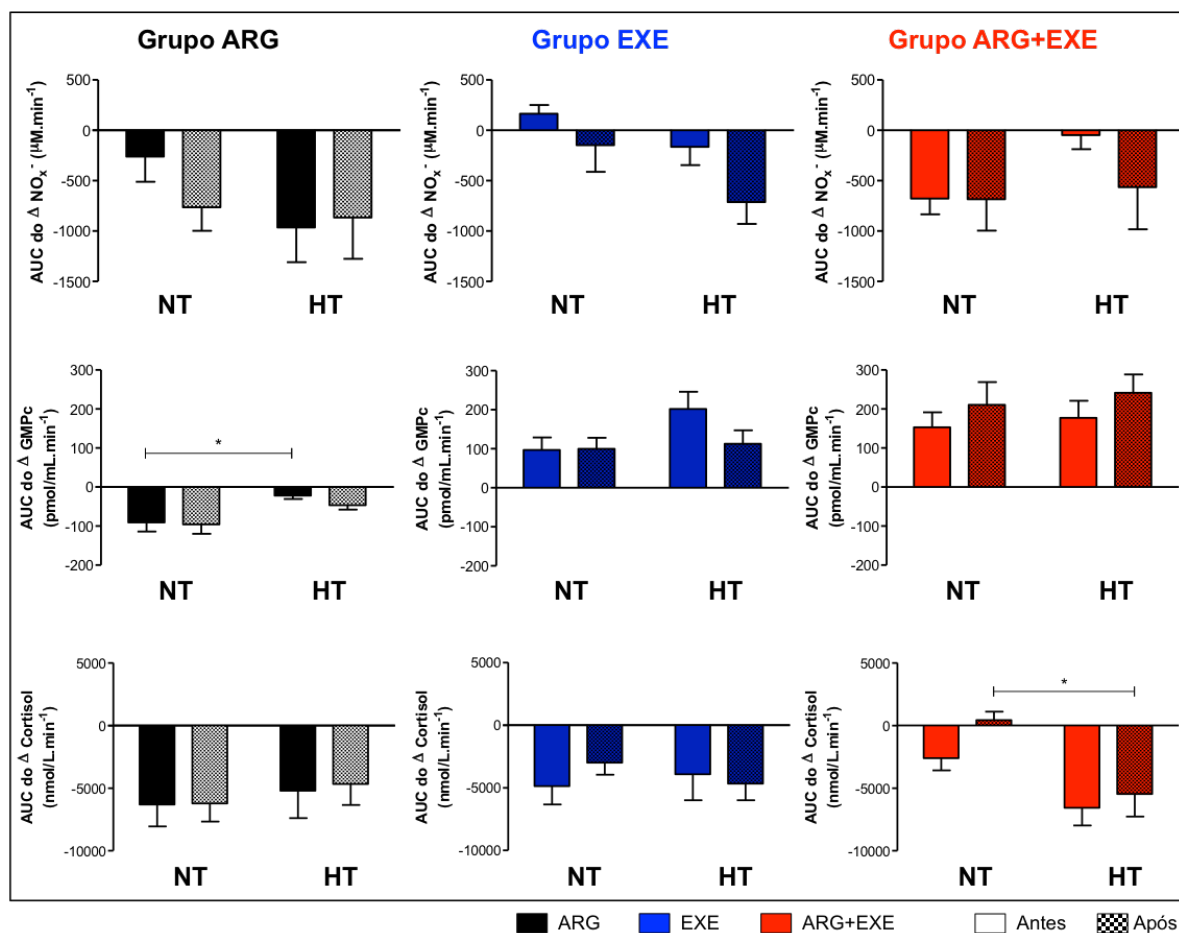


Figura 41. Área abaixo da curva (AUC) da variação do nitrito/nitrato (NO_x^-), da guanosina monofosfato cíclico (GMPC) e cortisol durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Anova *two-way*).

14.4) Efeito do treinamento físico nos desafios agudos

14.4.1) Avaliação Cardiovascular

Para avaliar se o programa de 8 semanas de treinamento físico aeróbio foi capaz de alterar os parâmetros avaliados nos diferentes desafios agudos foi utilizado teste *t* de Student para amostras pareadas comparando a AUC dos valores absolutos. Dessa forma, o objetivo foi investigar se haveriam diferenças após o treinamento físico aeróbio nas mulheres pós-menopausadas normotensas e hipertensas.

Após concluir o programa de treinamento físico, as mulheres NT apresentaram PAS significativamente aumentada após o estímulo com administração de L-arginina (grupo ARG). Enquanto que após o treinamento físico, os outros desafios mantiveram os valores de PAS similares à avaliação inicial (Figura 42).

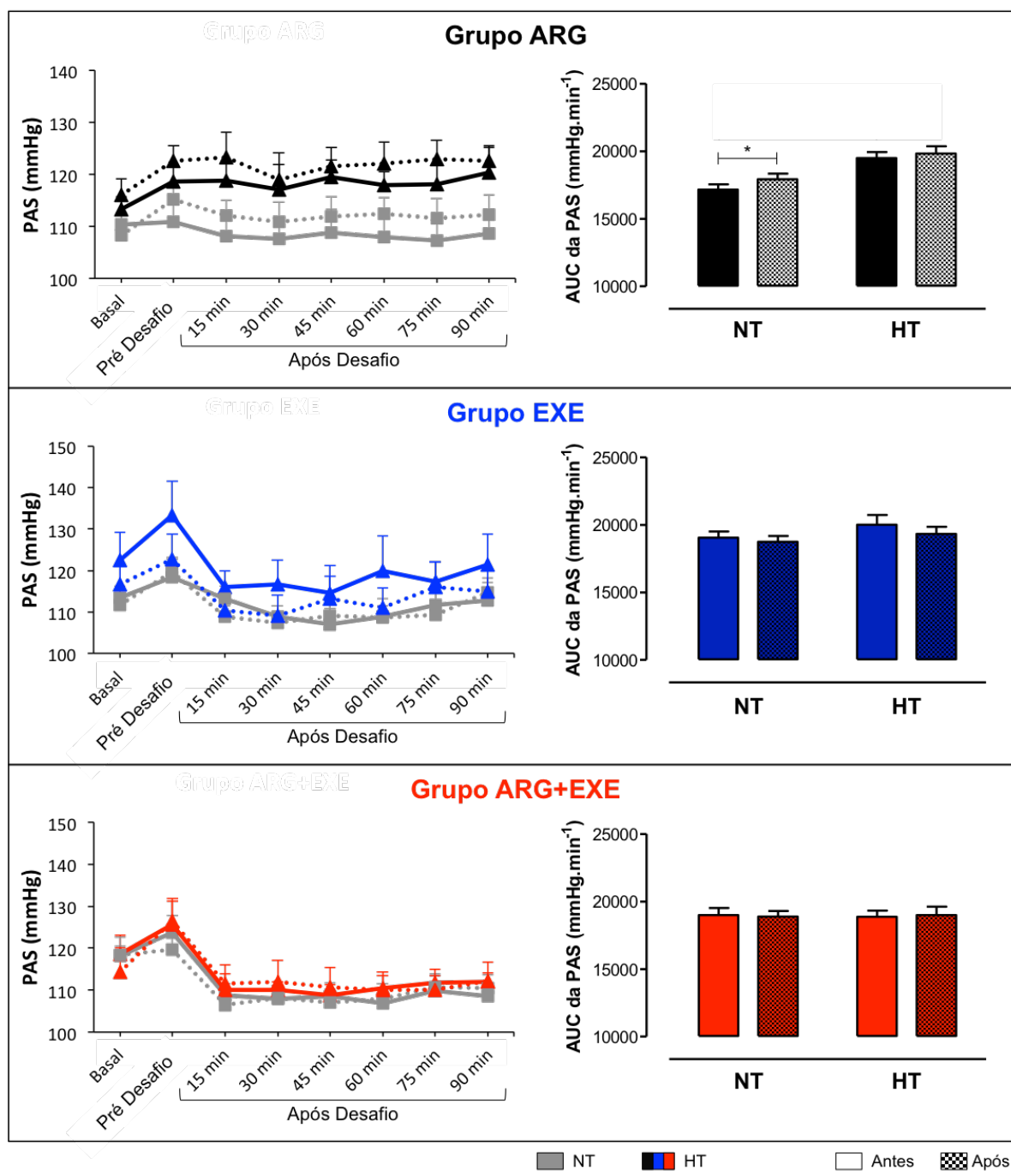


Figura 42. Comportamento da pressão arterial sistólica (PAS) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras pareadas).

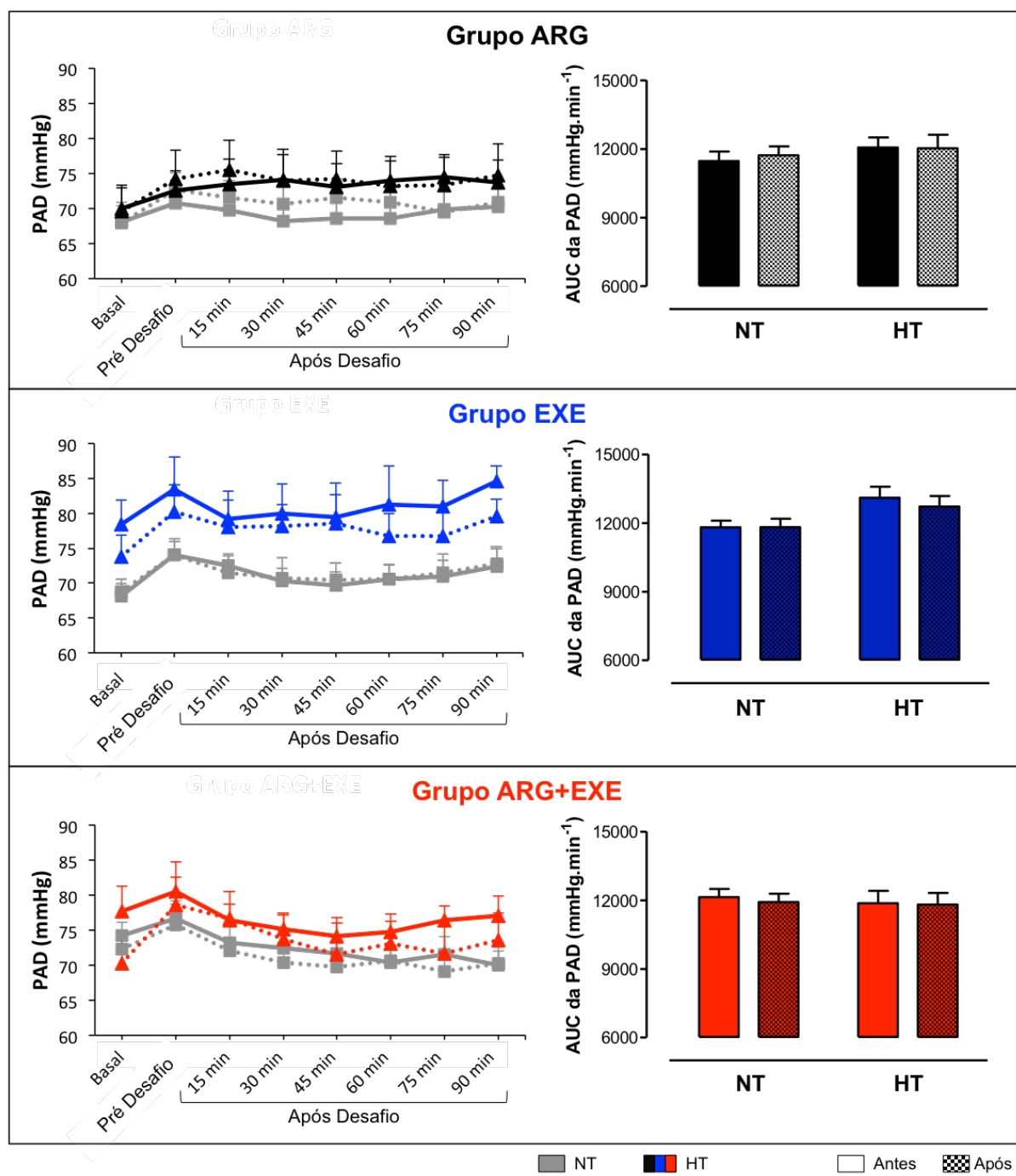


Figura 43. Comportamento da pressão arterial diastólica (PAD) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras pareadas).

A análise da AUC da PAD não foi diferente após as 8 semanas de treinamento aeróbio (Figura 43). No entanto, a avaliação da FC mostrou que o estímulo com L-arginina (grupo ARG) nas mulheres NT e o estímulo com L-arginina associada ao exercício (ARG+EXE grupo) nas mulheres NT e HT mantiveram esse parâmetro significativamente menor durante o desafio realizado após o programa de treinamento físico (Figura 44).

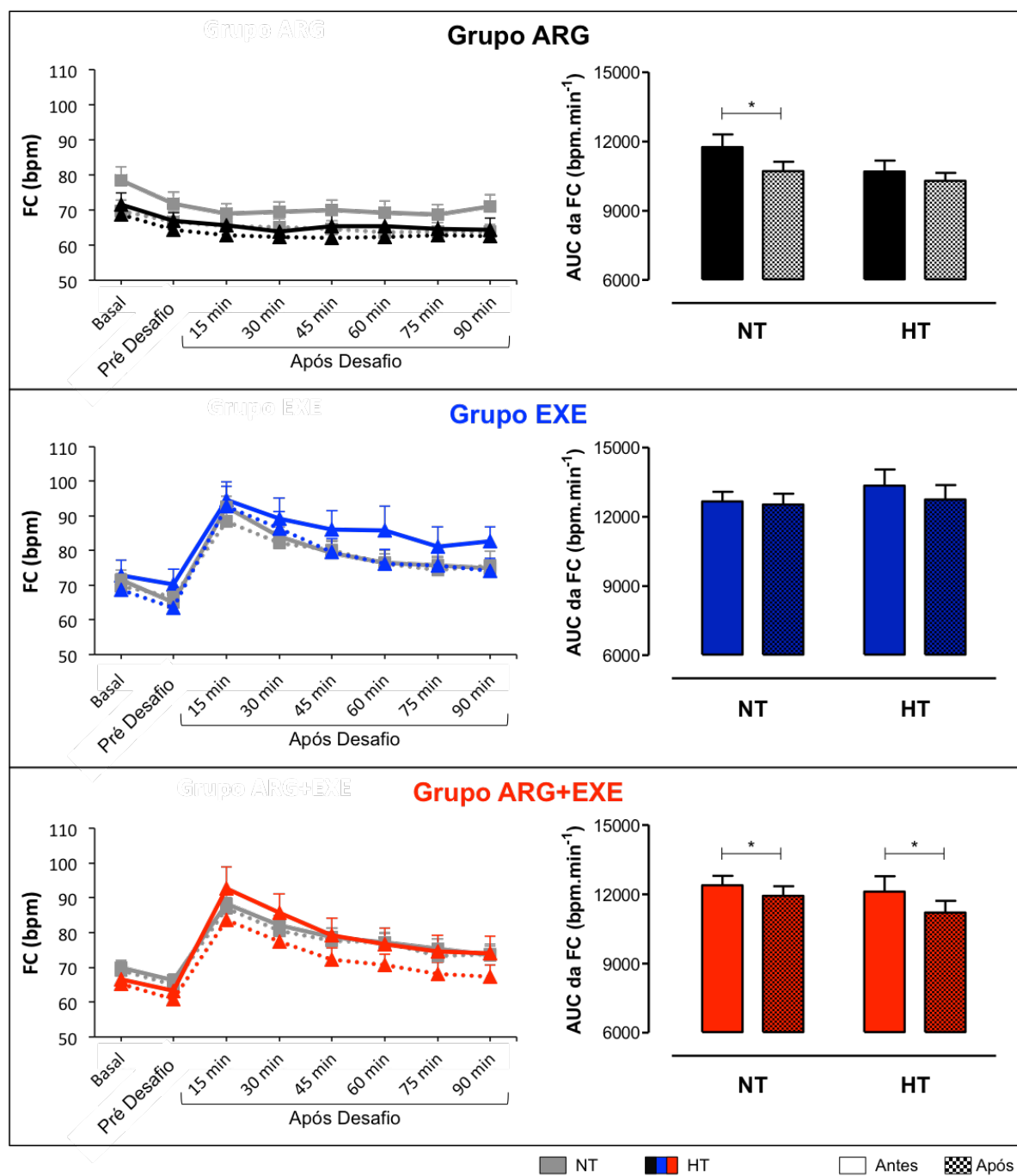


Figura 44. Comportamento da frequência cardíaca (FC) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras pareadas).

14.4.2) Avaliação Bioquímica

A análise da AUC dos níveis de nitrito/nitrato não se mostrou diferente após as 8 semanas de treinamento físico em ambos os grupos (Figura 45).

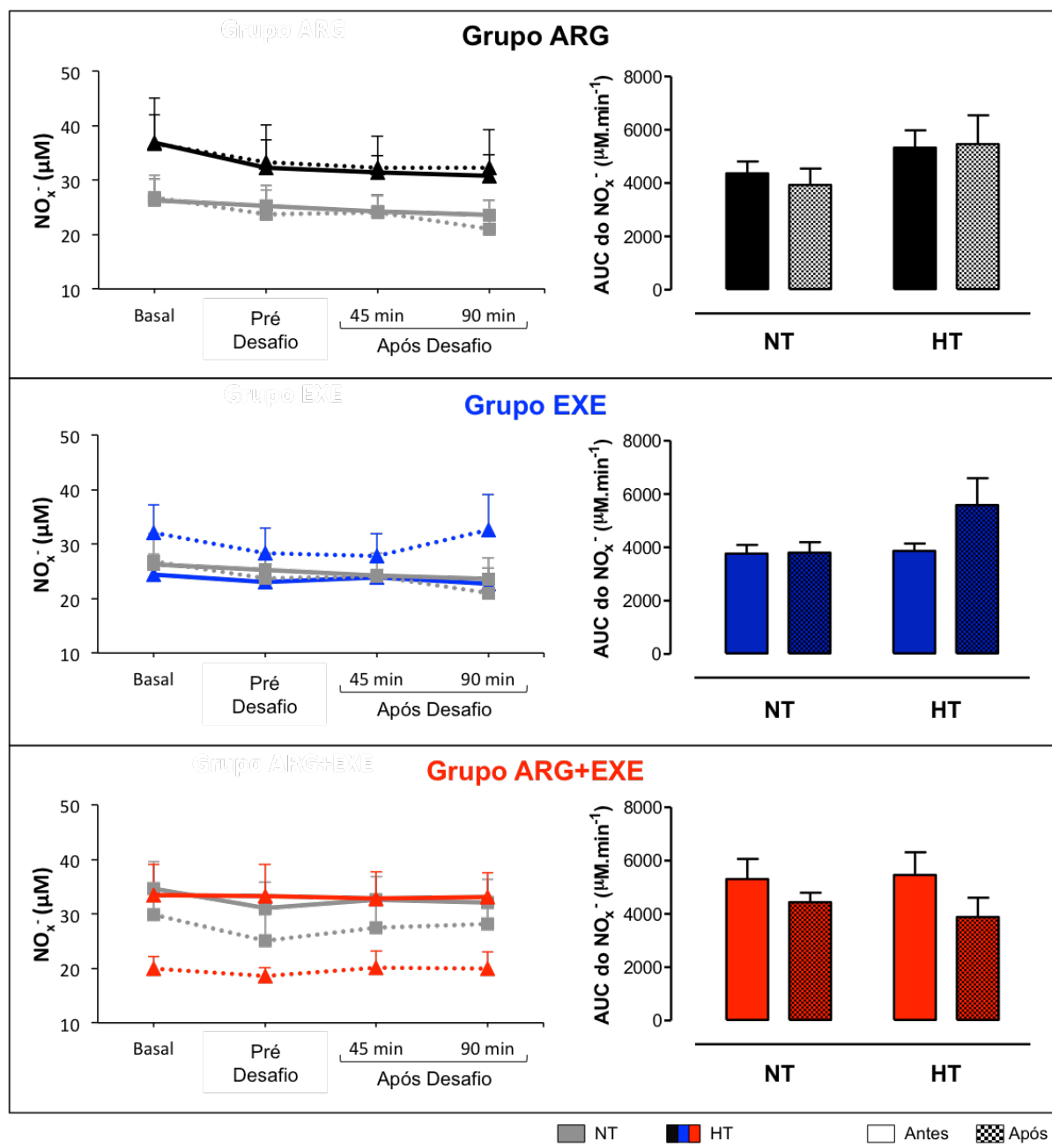


Figura 45. Comportamento do nitrito/nitrato (NO_x^-) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras pareadas).

No entanto, o segundo mensageiro GMPc aumentou significativamente após o programa de treinamento depois de estímulo com L-arginina (grupo ARG) nas mulheres NT e depois de estímulo com L-arginina associada ao exercício físico agudo (grupo ARG+EXE) nas mulheres HT (Figura 46).

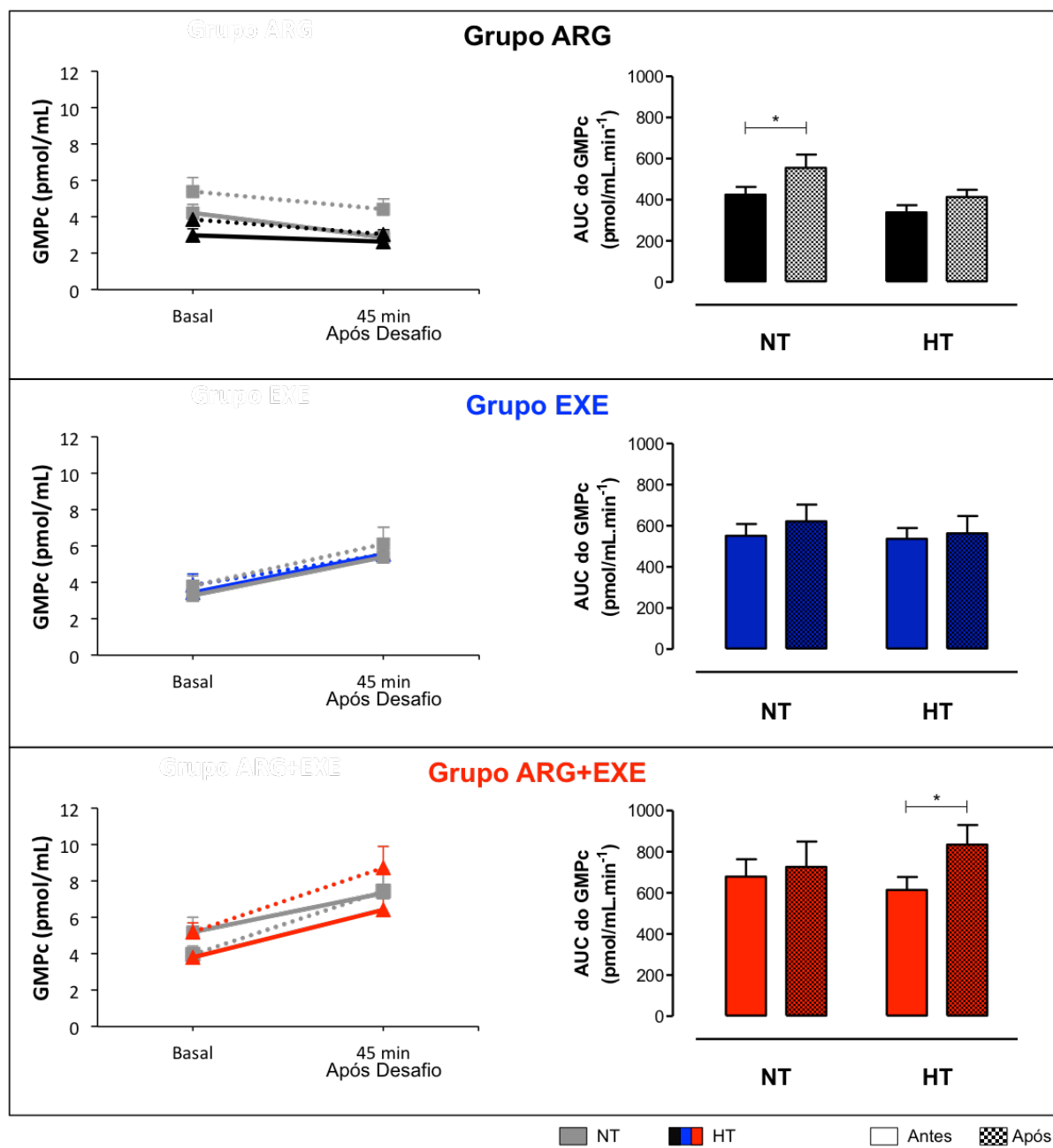


Figura 46. Comportamento da guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras pareadas).

Interessantemente, os níveis de cortisol analisados por meio da AUC e apresentados na figura 47, mostraram que esse hormônio manteve-se em menores concentrações durante os desafios após o programa de treinamento físico no grupo de normotensas que foi estimulado com exercício aeróbio agudo (grupo EXE) e com L-arginina associada ao exercício (grupo ARG+EXE), bem como no grupo de hipertensas que foi estimulado com a associação de L-arginina e exercício físico (grupo ARG+EXE).

Além disso, análise de medidas repetidas ponto a ponto realizada entre o desafio agudo experimental antes e após o treinamento, apontou que nas mulheres NT desafiadas com L-arginina e exercício físico (grupo ARG+EXE) todos os pontos de cortisol analisados após as 8 semanas de treinamento físico foram significativamente menores, inclusive o momento basal.

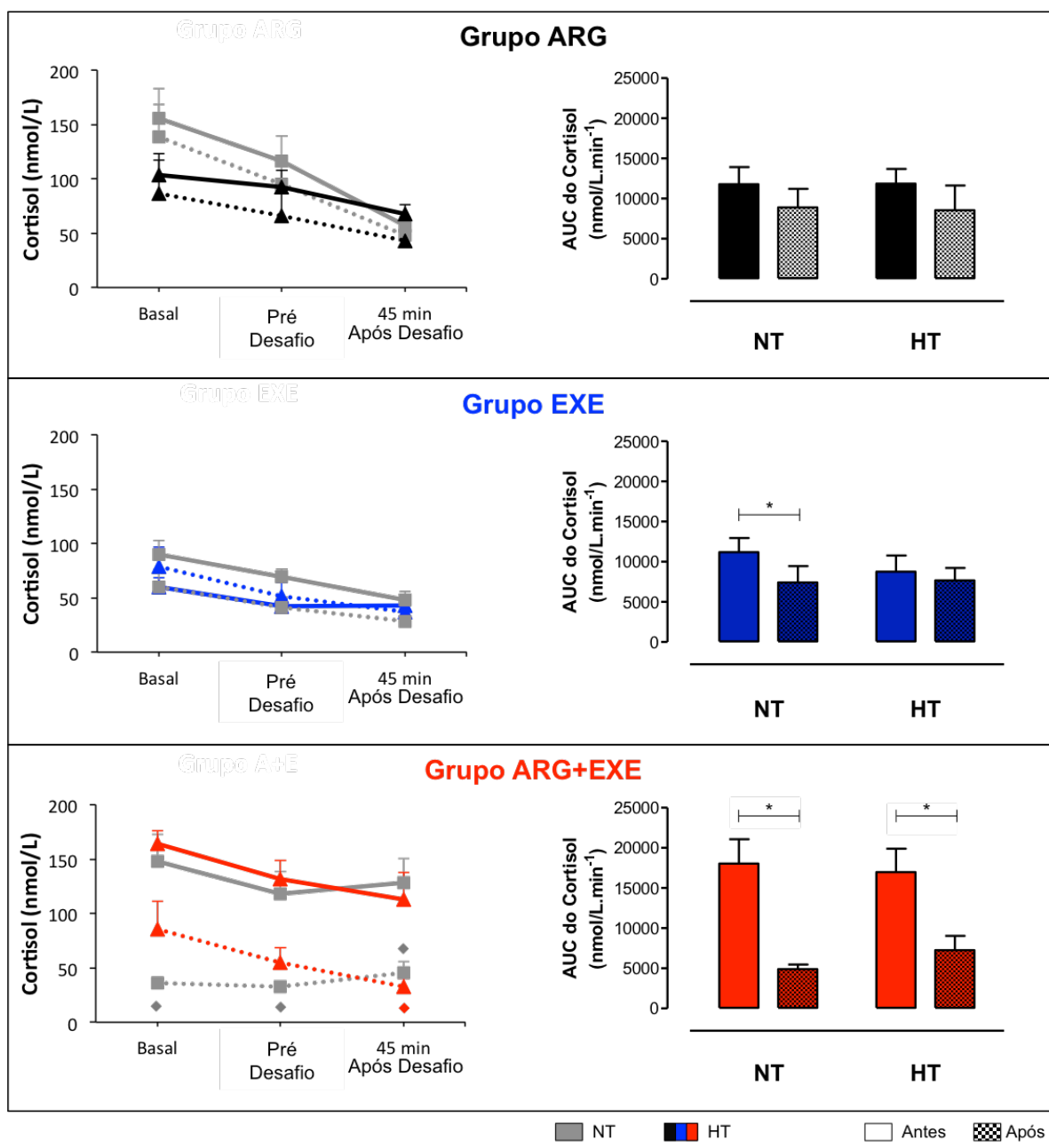


Figura 47. Comportamento do cortisol e respectiva área abaixo da curva (AUC) durante os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras pareadas); ♦ $p < 0,05$ vs respectivo ponto pré treinamento (Anova medidas repetidas).

A variabilidade da PAS e da PAD basicamente manteve-se similar após o protocolo de treinamento físico tanto nas mulheres normotensas quanto hipertensas, no entanto, o grupo de HT desafiado com L-arginina (grupo ARG) apresentou menor variabilidade da PAD após a avaliação (Figura 48).

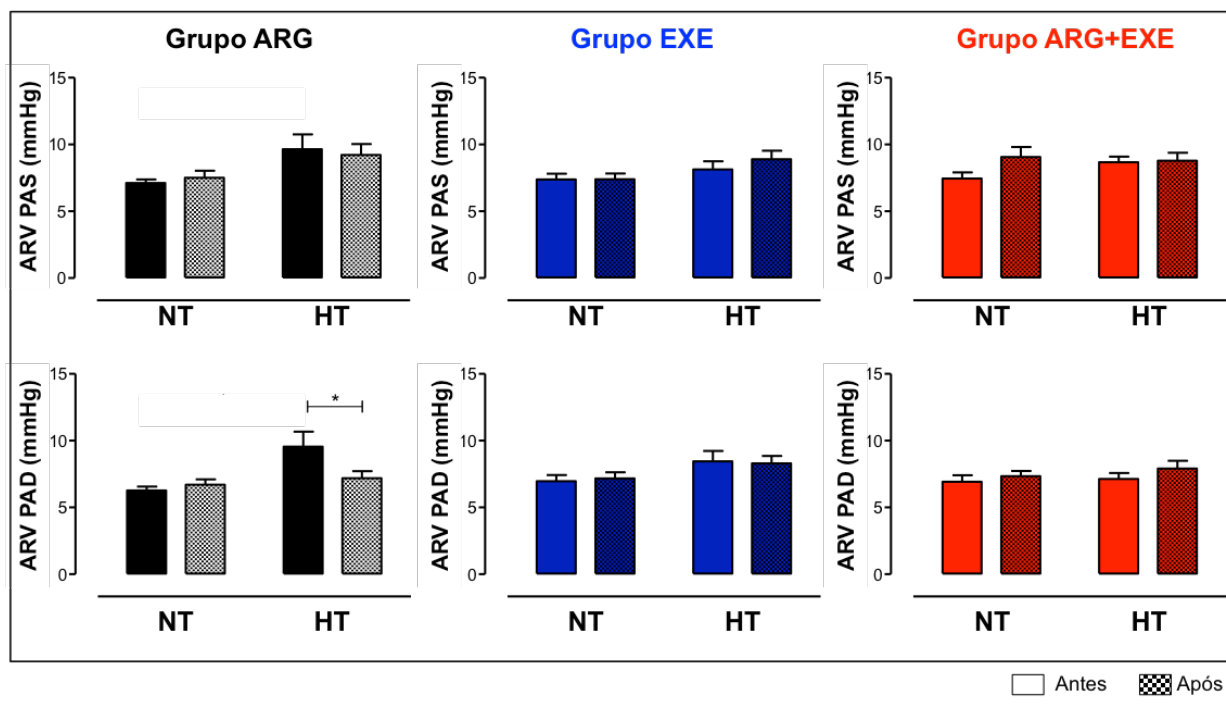


Figura 48. Cálculo da variabilidade da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) obtida com o MAPA após os desafios agudos experimentais das voluntárias normotensas e hipertensas antes e após o treinamento físico de 8 semanas. * $p < 0,05$ (Teste t de Student para amostras pareadas).

15. SUMÁRIO DOS RESULTADOS

Tabela 9. Efeitos dos desafios agudos isoladamente nas mulheres normotensas.

	ANTES TF			APÓS TF		
	ARG	EXE	A+E	ARG	EXE	A+E
PAS			↓			↓
PAD						
FC	↓	↑	↑	↓	↑	↑
NO _x ⁻						
GMPc	↓	↑	↑	↓	↑	↑
Cortisol	↓	↓		↓	↓	

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca; NO_x⁻: Nitrito/nitrato; GMPc: Monofosfato cíclico de guanosina; ↑: aumento; ↓: redução.

Tabela 10. Efeitos dos desafios agudos isoladamente nas mulheres hipertensas.

	ANTES TF			APÓS TF		
	ARG	EXE	A+E	ARG	EXE	A+E
PAS						
PAD	↑					
FC	↓	↑	↑	↓	↑	↑
NO _x ⁻						
GMPc	↓	↑	↑	↓	↑	↑
Cortisol		↓	↓		↓	↓

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca; NO_x⁻: Nitrito/nitrato; GMPc: Monofosfato cíclico de guanosina; ↑: aumento; ↓: redução.

Tabela 11. Comparação entre os desafios agudos (AUC Δ) nas mulheres normotensas.

	ANTES TF			APÓS TF		
	ARG	EXE	A+E	ARG	EXE	A+E
PAS			↓			↓
PAD		↑				
FC	↓	↑	↑	↓	↑	↑
NO _x ⁻			↓			
GMPc	↓	↑	↑	↓	↑	↑
Cortisol				↓		

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca; NO_x⁻: Nitrito/nitrato; GMPc: Monofosfato cíclico de guanosina; ↑: aumento; ↓: redução.

Tabela 12. Comparação entre os desafios agudos (AUC Δ) nas mulheres hipertensas.

	ANTES TF			APÓS TF		
	ARG	EXE	A+E	ARG	EXE	A+E
PAS	↑	↓	↓	↑	↓	↓
PAD						
FC	↓	↑	↑	↓	↑	↑
NO _x ⁻	↓					
GMPc	↓	↑	↑	↓	↑	↑
Cortisol						

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca; NO_x⁻: Nitrito/nitrato; GMPc: Monofosfato cíclico de guanosina; ↑: aumento; ↓: redução.

Tabela 13. Comparação entre normotensas (NT) e hipertensas (HT).

	ARG		EXE		ARG+EXE	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
PAS	NT < HT				NT < HT	
PAD						
FC						
NO_x⁻						
GMPc	NT < HT					
Cortisol	NT > HT					

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca; NO_x⁻: Nitrito/nitrato; GMPc: Monofosfato cíclico de guanosina; <: menor que; >: maior que.

Tabela 14. Efeito do treinamento físico nos desafios agudos.

	NORMOTENSAS			HIPERTENSAS		
	ARG	EXE	A+E	ARG	EXE	A+E
PAS	↑					
PAD						
FC	↓		↓			↓
NO_x⁻						
GMPc	↑					↑
Cortisol		↓	↓			↓
PAD variab	↓					

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca; NO_x⁻: Nitrito/nitrato; GMPc: Monofosfato cíclico de guanosina; Variab: Variabilidade ↑: aumento; ↓: redução.

16. DISCUSSÃO

Estudos epidemiológicos tem mostrado sistematicamente a importância da prática do exercício físico na prevenção das doenças cardio-metabólicas (Thijssen et al, 2010; Fernandes et al, 2011; Green et al, 2014). No entanto, estudos avaliando as vias de sinalização pelas quais esses efeitos benéficos são atingidos em resposta ao exercício físico em seres humanos são escassos (de Meirelles et al, 2009) e nenhum estudo existe avaliando mulheres após a menopausa.

Trabalhos prévios mostram que a redução da pressão arterial após exercício aeróbio varia de 18–20 mmHg (Δ) e de 7–9mmHg (Δ), respectivamente, em seres humanos com hipertensão leve ou moderada. Em indivíduos normotensos, a redução é de 8–10 mmHg (Δ) para a pressão sistólica e de 3–5 mmHg (Δ) para a pressão diastólica (Duncan et al, 1985; Kenney & Seals, 1993; Hagberg, Park & Brown, 2000; Cornelissen et al, 2010).

Em nosso trabalho observamos que oito semanas de treinamento físico aeróbio não alteram os valores de pressão arterial em mulheres normotensas e hipertensas e elas respondem de maneira similar. De fato, a pressão arterial de repouso de todas as participantes do estudo estava controlada e dentro dos valores limites considerados pela VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (2010), inclusive das voluntárias hipertensas. Por essa razão, 8 semanas de treinamento físico aeróbio, mesmo realizado em intensidade moderada, não conseguiu promover alterações significativas nos valores de pressão arterial.

A monitorização ambulatorial de pressão arterial é considerada uma ferramenta importante em estudos clínicos, pois fornecem informações durante as atividades de vida diária dos pacientes, bem como o comportamento da PA durante o período de sono (Mancia & Verdecchia, 2015). Confirmando os dados de medida de pressão arterial de consultório, o monitoramento da pressão arterial mostrou que o protocolo empregado não alterou a pressão arterial sistólica ou diastólica durante a vigília, sono e no período total de 24 horas. De fato, estudo prévio mostra que somente exercício de alta intensidade e com tempo maior parece ser capaz de promover alterações na pressão arterial monitorada por 24 horas (Molmen-Hansen et al, 2012). Por outro lado, estudos epidemiológicos mostram que o treinamento físico pode retardar o aparecimento e/ou as complicações da hipertensão arterial em homens mesmo sem alterar os parâmetros cardiovasculares (Liu et al, 2014).

Um dos objetivos em realizar o desafio agudo experimental antes e após o protocolo de treinamento físico foi avaliar o comportamento de algumas variáveis hemodinâmicas e bioquímicas frente à um estímulo agudo, que muitas vezes não são

detectadas em avaliações basais. Dessa forma, quando submetemos as voluntárias à uma sessão de exercício físico agudo com ou sem administração de L-arginina, observamos claramente que as voluntárias apresentaram redução de PAS, tanto antes quanto após o programa de treinamento físico. Assim, foi possível perceber que o benefício do exercício agudo ocorre tanto em mulheres treinadas quanto não treinadas. A redução da PAS após o exercício aeróbio em indivíduos normotensos já está bem descrita na literatura (Forjaz et al, 2000; MacDonald, 2002; Chen & Bonham, 2010; Anunciação & Polito, 2011). Vários mecanismos podem estar envolvido nessa redução, entre eles centrais como a atividade barorreflexa (Chen & Bonham, 2010) e redução da atividade simpática (Howard & DiCarlo, 1992; Patil, DiCarlo & Collins, 1993; MacDonald, 2002), ou mecanismos humorais, principalmente relacionados à liberação de substâncias vasodilatadoras como a histamina (Barrett-O'Keefe, Kaplon & Halliwill, 2013) ou derivadas do endotélio como o NO (Rao, Collins & DiCarlo, 2002; Lizardo et al, 2008; Lee et al, 2009) e, ainda, prostaciclina (Wilson & Kapoor, 1993; MacDonald, 2002).

Apesar de trabalhos anteriores em nosso laboratório mostrarem que um dos mecanismos pelos quais o exercício físico exerce efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular, tanto em modelos animais (Zanesco & Antunes, 2007; Claudino et al, 2011), como em seres humanos (Zanesco & Zaros, 2009; Sponton et al, 2010), envolve a via NO/GMPc, no presente estudo não detectamos qualquer alteração nos níveis de NOx^- . Um dos objetivos em realizar o desafio agudo experimental antes e após o protocolo de treinamento físico foi avaliar o comportamento de algumas variáveis bioquímicas frente à um estímulo agudo, que muitas vezes não são detectadas em avaliações basais. A ausência de alterações no biomarcador NOx^- não é claro para nós nesse momento. Alguns autores encontraram correlação positiva somente entre os níveis de GMPc e nitrito e sugerem ser esses os melhores marcadores que refletem a produção de NO, ao invés do nitrato (Metzger, Sertorio & Tanus-Santos, 2006). Entretanto, em nosso método não foi possível analisar estes metabólitos (nitrito e nitrato) separadamente.

No entanto, aumento significativo do segundo mensageiro foi observado nos desafios agudos em que se realizou exercício físico e a administração com L-arginina não promoveu efeito adicional à esse resultado, independente do treinamento físico. Esse resultado mostra claramente que os efeitos benéficos do exercício físico podem ser detectados pelos biomarcadores relacionados à via de sinalização do GMPc, melhorando o funcionamento do sistema vascular, mas que podem não necessariamente se refletir em alterações na pressão arterial em mulheres na pós menopausa normotensas e hipertensas

controladas. De fato, trabalhos prévios mostram que os níveis basais de GMPc não diferem entre indivíduos treinados e não treinados (Alfieri, Rodriguez-Plaza & Cubeddu, 2000). No entanto, após uma sessão de exercício físico, os indivíduos treinados tiveram maior elevação na concentração de GMPc (Poveda et al, 1997; Alfieri, Rodriguez-Plaza & Cubeddu, 2000).

Alguns estudos mostram maior ativação da via NO/GMPc em resposta ao treinamento físico tanto em mulheres pós menopausadas hipertensas (Zanesco & Zaros, 2009; Jarrete et al, 2014) quanto em normotensas (Maeda et al, 2004; Jarrete et al, 2014). Por outro lado, alguns pesquisadores não detectaram alterações nos níveis de NO_x^- após treinamento físico (Brinkley et al, 2009; Esposti et al, 2011). As razões para essa discrepância poderia ser devido ao fato de que tais autores avaliaram homens e mulheres juntos (Brinkley et al, 2009) enquanto que em outro trabalho as mulheres foram estratificadas segundo a presença de polimorfismo para o gene da eNOS e não pela presença de níveis elevados de pressão arterial (Esposti et al, 2011). Assim, dependendo da população estudada, os biomarcadores podem ser mais sensíveis aos efeitos benéficos do treinamento físico do que outros. Além disso, trabalho recente mostrou que a resposta relaxante mediada pelo fluxo não é diferente entre mulheres na pós-menopausas treinadas e não treinadas, diferentemente dos resultados obtidos em homens (Moreau et al, 2013). Assim, as respostas ao treinamento físico parecem possuir singularidades com relação ao gênero.

Com relação ao cortisol, tanto para as mulheres normotensas quanto para as hipertensas, o desafio agudo experimental mostrou que o treinamento físico aeróbio foi capaz de promover redução dos níveis de cortisol. De fato, estudo prévios tem mostrado que a constante ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e altos níveis plasmáticos de cortisol estão associados à hipertensão arterial (Veldhuis, Sharma & Roelfsema, 2013). Por outro lado, tem sido demonstrado que o exercício físico ou a melhor aptidão física pode levar à diminuição da ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, com redução do cortisol plasmático. Assim, o treinamento físico de 8 semanas promoveu redução dos níveis de cortisol tanto em mulheres normotensas como hipertensas.

No entanto, somente no grupo de mulheres hipertensas treinadas houve redução da variabilidade da PAD. De fato, nas últimas décadas a variabilidade da PA tem sido utilizada como importante medida para prever o risco de desenvolver DCV permitindo um melhor prognóstico (Bombelli et al, 2014; Mancia & Grassi, 2014). Assim, a redução da variabilidade da PAD nesse grupo mostra que o treinamento físico em mulheres hipertensas promoveu benefícios sobre o sistema cardiovascular, que foi detectado quando houve os desafios agudos da combinação entre L-arginina e exercício físico.

17. CONCLUSÃO

De acordo com as análises realizadas, é possível sugerir que o treinamento físico é capaz de reduzir as concentrações séricas de cortisol, contribuindo na redução do risco cardiovascular em mulheres após a menopausa. No entanto, esse resultado só é observado após estímulo com exercício agudo para normotensas, e após associação de L-arginina e exercício agudo para hipertensas. Além disso, apesar de alguns biomarcadores terem apresentado alterações frente aos estímulos, essas modificações não se refletiram efetivamente na pressão arterial. Ainda, é possível sugerir que o GMPc pode ser considerado um biomarcador efetivo para verificar os efeitos agudos e crônicos do exercício físico.

18. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- * Abbenhardt C, et al. Effects of individual and combined dietary weight loss and exercise interventions in postmenopausal women on adiponectin and leptin levels. **J Intern Med**, v. 274, n. 2, p. 163-75, 2013.
- * Alfieri AB, Rodriguez-Plaza LG, Cubeddu LX. Effects of short- and long-term exercise on urinary cGMP excretion in healthy subjects and in patients with coronary artery disease. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 35, n. 6, p. 891-6, 2000.
- * Alvares TS, et al. Acute L-arginine supplementation increases muscle blood volume but not strength performance. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 37, n. 1, p. 115-26, 2012.
- * American Heart Association. Heart disease and stroke statistics - 2010 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 121, n. 7, p. e46-e215, 2010.
- * Anunciação PG, Polito MD. A review on post-exercise hypotension in hypertensive individuals. **Arq Bras Cardiol**, v. 96, n. 5, p. e100-109, 2011.
- * Arsenault BJ, et al. Effect of exercise training on cardiometabolic risk markers among sedentary, but metabolically healthy overweight or obese post-menopausal women with elevated blood pressure. **Atherosclerosis**, v. 207, n. 2, p. 530-3, 2009.
- * Barrett-O'Keefe Z, Kaplon RE, Halliwill JR. Sustained postexercise vasodilatation and histamine receptor activation following small muscle-mass exercise in humans. **Exp Physiol**, v. 98, n. 1, p. 268-77, 2013.
- * Beneke R, Hütler M, Leithäuser RM. Maximal lactate-steady-state independent of performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 6, p. 1135-9, 2000.
- * Beneke R, Leithäuser RM, Ochentel O. Blood lactate diagnostics in exercise testing and training. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 6, n. 1, p. 8-24, 2011.
- * Beneke R, von Duvillard SP. Determination of maximal lactate steady state response in selected sports events. **Med Sci Sports Exerc**, v. 28, n. 2, p. 241-6, 1996.
- * Beneke R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. **Eur J Appl Physiol**, v. 89, n. 1, p. 95-9, 2003.
- * Bhupathiraju SN, Manson JE. Menopausal hormone therapy and chronic disease risk in the Women's Health Initiative: Is timing everything? **Endocr Pract**, v. 20, n. 11, p. 1201-13, 2014.
- * Böger RH. The pharmacodynamics of L-arginine. **J Nutr**, v. 137, n. 6, Suppl 2, p. 1650S-1655S, 2007.
- * Bombelli M, et al. Relationship among morning blood pressure surge, 24-hour blood pressure variability, and cardiovascular outcomes in a white population. **Hypertension**, v. 64, n. 5, p. 943-50, 2014.
- * Borg G. Borg's Perceived Exertion and Pain Scales. Champaign (IL): **Human Kinetics**; 1998.
- * Bowen WP. Changes in heart-rate, blood-pressure, and duration of systole resulting from bicycling. **Am J Physiol**, v. 11, p. 59-77, 1904.
- * Brinkley TE, et al. Plasma nitrate/nitrite levels are unchanged after long-term aerobic exercise training in older adults. **Nitric Oxide**, v. 21, n. 3-4, p. 234-8, 2009.
- * Brosnihan KB, et al. Estrogen protects transgenic hypertensive rats by shifting the vasoconstrictor-vasodilator balance of RAS. **Am J Physiol**, v. 273, n. 6, Pt 2, p. R1908-15, 1997.
- * Brown SP, et al. Effects of resistance exercise and cycling on recovery blood pressure. **J Sports Sci**, v. 12, n. 5, p. 463-8, 1994.
- * Burger HG, et al. Prospectively measured levels of serum follicle-stimulating hormone, estradiol, and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 84, n. 11, p. 4025-30, 1999.
- * Cagnacci A, et al. Increased cortisol level: a possible link between climacteric symptoms and cardiovascular risk factors. **Menopause**, v. 18, n. 3, p. 273-8, 2011.

- * Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circ Res**, v. 87, n. 10, p. 840-4, 2000.
- * Callaway CW, et al. Circumferences. In: Lohman TG, Roche AF & Martorell LR. Anthropometric Standardization Reference Manual. Champaign, IL: **Human Kinetics Book**, Abridged Edition, p. 39-54, 1988.
- * Cardoso Jr CG, et al. Climatério, Hipertensão arterial e qualidade de vida. **Hipertensão**, v. 10, p. 144-51, 2007.
- * Casonatto J, et al. Cardiovascular and autonomic responses after exercise sessions with different intensities and durations. **Clinics**, v. 66, n. 3, p. 453-458, 2011.
- * Chen CY, Bonham AC. Postexercise hypotension: central mechanisms. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 38, n. 3, p. 122-7, 2010.
- * Chin-Dusting JP, et al. L-arginine transport in humans with cortisol-induced hypertension. **Hypertension**, v. 41, n. 6, p. 1336-40, 2003.
- * Chin-Dusting JP, Willems L, Kaye DM. L-arginine transporters in cardiovascular disease: a novel therapeutic target. **Pharmacol Ther**, v. 116, n. 3, p. 428-36, 2007.
- * Church TS, et al. Effects of different doses of physical activity on cardiorespiratory fitness among sedentary, overweight or obese postmenopausal women with elevated blood pressure: a randomized controlled trial. **JAMA**, v. 297, n. 19, p. 2081-91, 2007.
- * Ciolac EG, et al. Acute effects of continuous and interval aerobic exercise on 24-h ambulatory blood pressure in long-term treated hypertensive patients. **Int J Cardiol**, v. 133, n. 3, p. 381-7, 2009.
- * Claudino MA, et al. Exercise training ameliorates the impairment of endothelial and nitric oxide corpus cavernosum responses in diabetic rats. **Life Sci**, v. 88, n. 5-6, p. 272-7, 2011.
- * Coman D, Yapfite-Lee J, Boneh A. New indications and controversies in arginine therapy. **Clin Nutr**, v. 27, n. 4, p. 489-96, 2008.
- * Cornelissen VA, et al. Effects of aerobic training intensity on resting, exercise and post-exercise blood pressure, heart rate and heart-rate variability. **J Hum Hypertens**, v. 24, n. 3, p. 175-82, 2010.
- * Coylewright M, Reckelhoff JF, Ouyang P. Menopause and hypertension: an age-old debate. **Hypertension**, v. 51, n. 4, p. 952-9, 2008.
- * de Meirelles LR, et al. Chronic exercise reduces platelet activation in hypertension: upregulation of the L-arginine-nitric oxide pathway. **Scand J Med Sci Sports**, v. 19, n. 1, p. 67-74, 2009.
- * de Moraes C, et al. Exercise training improves relaxation response and SOD-1 expression in aortic and mesenteric rings from high caloric diet-fed rats. **BMC Physiol**, v. 8, p. 12, 2008.
- * Delbin MA, et al. Influence of physical preconditioning on the responsiveness of rat pulmonary artery after pulmonary ischemia/reperfusion. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 147, n. 3, p. 793-8, 2007.
- * Delbin MA, Zanesco A. Disfunção endotelial, estresse oxidativo e doenças cardiometabólicas. In: **Doenças cardiometabólicas e exercícios físicos**. Zanesco A & Puga GM. Rio de Janeiro: Revinter, 2013.
- * Denninger JW, Marletta MA. Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. **Biochim Biophys Acta**, v. 1411, n. 2-3, p. 334-50, 1999.
- * Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014/Sociedade Brasileira de Diabetes. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014.
- * Donnelly JE, et al. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 2, p. 459-71, 2009.
- * Duncan JJ, et al. The effects of aerobic exercise on plasma catecholamines and blood pressure in patients with mild essential hypertension. **JAMA**, v. 254, n. 18, p. 2609-13, 1985.
- * El Assar M, Angulo J, Rodríguez-Mañas L. Oxidative stress and vascular inflammation in aging. **Free Radic Biol Med**, v. 65, p. 380-401, 2013.

- * El-Missiry MA, Othman AI, Amer MA. L-Arginine ameliorates oxidative stress in alloxan-induced experimental diabetes mellitus. **J Appl Toxicol**, v. 24, n. 2, p. 93-7, 2004.
- * Engel PC, Jones JB. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolite assays involving the use of NAD⁺ in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for the assay of L-glutamate, L-lactate, and other metabolites. **Anal Biochem**, v. 88, n. 2, p. 475-84, 1978.
- * Esposti RD, et al. Influence of eNOS gene polymorphism on cardiometabolic parameters in response to physical training in postmenopausal women. **Braz J Med Biol Res**, v. 44, n. 9, p. 855-63, 2011.
- * Evans RW, et al. Biochemical responses of healthy subjects during dietary supplementation with L-arginine. **J Nutr Biochem**, v. 15, n. 9, p. 534-9, 2004.
- * Fagman JB, et al. The androgen receptor confers protection against diet-induced atherosclerosis, obesity, and dyslipidemia in female mice. **FASEB J**, v. 29, n. 4, p. 1540-50, 2015.
- * Faude O, Kindermann W, Meyer T. Lactate threshold concepts: how valid are they? **Sports Med**, v. 39, n. 6, p. 469-90, 2009.
- * Fayh AP, et al. Effects of L-arginine supplementation on blood flow, oxidative stress status and exercise responses in young adults with uncomplicated type I diabetes. **Eur J Nutr**, v. 52, n. 3, p. 975-83, 2013.
- * Félétou M, Köhler R, Vanhoutte PM. Endothelium-derived vasoactive factors and hypertension: possible roles in pathogenesis and as treatment targets. **Curr Hypertens Rep**, v. 12, n. 4, p. 267-75, 2010.
- * Fernandes CE, et al. Guideline sobre climatério. **Sociedade Brasileira de Reprodução Humana**, 2007.
- * Fernandes CE, et al. I Diretriz Brasileira sobre Prevenção de Doenças Cardiovasculares em Mulheres Climatéricas e a Influência da Terapia de Reposição Hormonal da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) e da Associação Brasileira do Climatério (SOBRAC). **Arq Bras Cardiol**, v. 91, n. 1, supl. 1, p. 1-23, 2008.
- * Fernandes RA, et al. Prevalence of dyslipidemia in individuals physically active during childhood, adolescence and adult age. **Arq Bras Cardiol**, v. 97, n. 4, p. 317-23, 2011.
- * Ferrari E, et al. Age-related changes of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: pathophysiological correlates. **Eur J Endocrinol**, v. 144, n. 4, p. 319-29, 2001.
- * Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Assoc Med Bras**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- * Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239-47, 2000.
- * Fisman EZ, Tenenbaum A, Pines A. Systemic hypertension in postmenopausal women: a clinical approach. **Curr Hypertens Rep**, v. 4, n. 6, p. 464-70, 2002.
- * Fitzgerald W. Labile hypertension and jogging: new diagnostic tool or spurious discovery? **Br Med J (Clin Res Ed)**, v. 282, n. 6263, p. 542-4, 1981.
- * Flores LJ, et al. Effects of exercise training on autonomic dysfunction management in an experimental model of menopause and myocardial infarction. **Menopause**, v. 17, n. 4, p. 712-7, 2010.
- * Forjaz CL, et al. Factors affecting post-exercise hypotension in normotensive and hypertensive humans. **Blood Press Monit**, v. 5, n. 5-6, p. 255-62, 2000.
- * Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. **Pflugers Arch**, v. 459, n. 6, p. 923-39, 2010.
- * Francis SH, et al. cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action. **Pharmacol Rev**, v. 62, n. 3, p. 525-63, 2010.
- * Freitas F. **Rotinas em Ginecologia**. 4ª ed. Porto alegre: Artmed Editora, 2001.
- * Freitas RP, et al. Influence of cortisol and DHEA-S on pain and other symptoms in post menopausal women with fibromyalgia. **J Back Musculoskelet Rehabil**, v. 25, n. 4, p. 245-52, 2012.

- * Fukai T, et al. Regulation of the vascular extracellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. **J Clin Invest**, v. 105, n. 11, p. 1631-9, 2000.
- * Gokce N. L-arginine and hypertension. **J Nutr**, v. 134, n. 10, Suppl, p. 2807-11S, 2004.
- * Golden SH, et al. Endogenous sex hormones and glucose tolerance status in postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 92, n. 4, p. 1289-95, 2007.
- * Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2012, p. 756132, 2012.
- * Goto C, et al. Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. **Am J Hypertens**, v. 20, n. 8, p. 825-30, 2007.
- * Green DJ, et al. Exercise training and artery function in humans: nonresponse and its relationship to cardiovascular risk factors. **J Appl Physiol**, v. 117, n. 4, p. 345-52, 2014.
- * Hagberg JM, Park JJ, Brown MD. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. **Sports Med**, v. 30, n. 3, p. 193-206, 2000.
- * Halliwill J, et al. Post-exercise hypotension and sustained post-exercise vasodilation: What happens after we exercise? **Exp Physiol**, v. 98, n. 1, p. 7-18, 2013.
- * Halliwill JR, Minson CT, Joyner MJ. Effect of systemic nitric oxide synthase inhibition on postexercise hypotension in humans. **J Appl Physiol**, v. 89, n. 5, p. 1830-6, 2000.
- * Hambrecht R, et al. Correction of endothelial dysfunction in chronic heart failure: Additional effects of exercise training and oral L-arginine supplementation. **J Am Coll Cardiol**, v. 35, n. 3, p. 706-13, 2000.
- * Harrison-Bernard LM, Schulman IH, Raij L. Postovariectomy hypertension is linked to increased renal AT1 receptor and salt sensitivity. **Hypertension**, v. 42, n. 6, p. 1157-63, 2003.
- * Heeren MV, et al. Exercise improves cardiovascular control in a model of dislipidemia and menopause. **Maturitas**, v. 62, n. 2, p. 200-4, 2009.
- * Heyward VH, Stolarczyk LM. **Avaliação da composição corporal aplicada**. São Paulo: Manole, p. 242, 2000.
- * Higashi Y, et al. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. **Circ J**, v. 73, n. 3, p. 411-8, 2009.
- * Hill L. Arterial pressure in man while sleeping, resting, working and bathing. **J Physiol Lond**, v. 22, p. 26-29, 1897.
- * Howard MG, DiCarlo SE. Reduced vascular responsiveness after a single bout of dynamic exercise in the conscious rabbit. **J Appl Physiol (1985)**, v. 73, n. 6, p. 2662-7, 1992.
- * Hurd WW. Menopausa. In Berek JS, Adashi E, Hillard PA. **Tratado de Ginecologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- * Ignarro LJ, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 84, n. 24, p. 9265-9, 1987.
- * Ingle DJ. The role of the adrenal cortex in homeostasis. **J Endocrinol**, v. 8, n. 4, p. xxiii-xxxvii, 1952.
- * Jarrete AP, et al. Influence of aerobic exercise training on cardiovascular and endocrine-inflammatory biomarkers in hypertensive postmenopausal women. **J Clin Transl Endocrinol**, v. 1, n. 3, p. 108-114, 2014.
- * Jones ME, et al. Changes in estradiol and testosterone levels in postmenopausal women after changes in body mass index. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 98, n. 7, p. 2967-74, 2013.
- * Jungersten L, et al. Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 82, n. 3, p. 760-4, 1997.
- * Kadoglou NP, et al. The anti-inflammatory effects of exercise training in patients with type 2 diabetes mellitus. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 14, n. 6, p. 837-43, 2007.

- * Kalleinen N, et al. 24-hour serum levels of growth hormone, prolactin, and cortisol in pre- and postmenopausal women: the effect of combined estrogen and progestin treatment. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 93, n. 5, p. 1655-61, 2008.
- * Kawano H, et al. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is improved by L-arginine administration: possible role of oxidative stress. **Atherosclerosis**, v. 161, n. 2, p. 375-80, 2002.
- * Kawano T, et al. Supplementation of L-arginine improves hypertension and lipid metabolism but not insulin resistance in diabetic rats. **Life Sci**, v. 73, n. 23, p. 3017-26, 2003.
- * Kelly JJ, et al. Effects of oral L-arginine on plasma nitrate and blood pressure in cortisol-treated humans. **J Hypertens**, v. 19, n. 2, p. 263-8, 2001.
- * Kelly JJ, et al. The nitric oxide system and cortisol-induced hypertension in humans. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 25, n. 11, p. 945-6, 1998.
- * Kenney MJ, Seals DR. Postexercise hypotension. Key features, mechanisms, and clinical significance. **Hypertension**, v. 22, p. 653-64, 1993.
- * Keyhani S, et al. Gender disparities in blood pressure control and cardiovascular care in a national sample of ambulatory care visits. **Hypertension**, v. 51, n. 4, p. 1149-55, 2008.
- * Kim JK, et al. Recent changes in cardiovascular risk factors among women and men. **J Womens Health (Larchmt)**, v. 15, n. 6, p. 734-46, 2006.
- * Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. **FASEB J**, v. 14, n. 12, p. 1685-96, 2000.
- * Knowlton AA, Lee AR. Estrogen and the cardiovascular system. **Pharmacol Ther**, v. 135, n. 1, p. 54-70, 2012.
- * Korhonen MT, Suominen H, Mero A. Age and sex differences in blood lactate response to sprint running in elite master athletes. **Can J Appl Physiol**, v. 30, n. 6, p. 647-65, 2005.
- * Lakshmi SVV, et al. Oxidative stress in cardiovascular disease. **Indian J Biochem Biophys**, v. 46, n. 6, p. 421-440, 2009.
- * Laterza MC, et al. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. **Hypertension**, v. 49, n. 6, p. 1298-306, 2007.
- * Lawes CM, et al. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. **Lancet**, v. 371, n. 9623, p. 1513-8, 2008.
- * Lee IM, et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. **Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 219-29, 2012.
- * Lee SK, et al. Endothelial nitric oxide synthase activation contributes to post-exercise hypotension in spontaneously hypertensive rats. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 382, n. 4, p. 711-4, 2009.
- * Lekakis JP, et al. Oral L-arginine improves endothelial dysfunction in patients with essential hypertension. **Int J Cardiol**, v. 86, n. 2-3, p. 317-23, 2002.
- * Lima R, Wofford M, Reckelhoff JF. Hypertension in postmenopausal women. **Curr Hypertens Rep**, v. 14, n. 3, p. 254-60, 2012.
- * Lizardo JH, et al. Post-resistance exercise hypotension in spontaneously hypertensive rats is mediated by nitric oxide. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 35, n. 7, p. 782-7, 2008.
- * Lou YK, et al. Decreased renal expression of nitric oxide synthase isoforms in adrenocorticotropin-induced and corticosterone-induced hypertension. **Hypertension**, v. 37, n. 4, p. 1164-70, 2001.
- * Lucotti P, et al. Oral L-arginine supplementation improves endothelial function and ameliorates insulin sensitivity and inflammation in cardiopathic nondiabetic patients after an aortocoronary bypass. **Metabolism**, v. 58, n. 9, p. 1270-6, 2009.
- * Lukanova A, et al. Body mass index, circulating levels of sex-steroid hormones, IGF-I and IGF-binding protein-3: a cross-sectional study in healthy women. **Eur J Endocrinol**, v. 150, n. 2, p. 161-71, 2004.

- * Lutosławska G, et al. Plasma TBARS, blood GSH concentrations, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in regularly menstruating women with ovulatory and anovulatory menstrual cycles. **Clin Chim Acta**, v. 331, n. 1-2, p. 159-63, 2003.
- * MacDonald JR, et al. Hypotension following mild bouts of resistance exercise and submaximal dynamic exercise. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 79, n. 2, p. 148-54, 1999.
- * MacDonald JR, et al. Post exercise hypotension is sustained during subsequent bouts of mild exercise and simulated activities of daily living. **J Hum Hypertens**, v. 15, n. 8, p. 567-71, 2001.
- * MacDonald JR. Potential causes, mechanisms, and implications of post exercise hypotension. **J Hum Hypertens**, v. 16, n. 4, p. 225-36, 2002.
- * Maeda S, et al. Moderate regular exercise increases basal production of nitric oxide in elderly women. **Hypertens Res**, v. 27, n. 12, p. 947-53, 2004.
- * Mancia G, Grassi G. The autonomic nervous system and hypertension. **Circ Res**, v. 114, n. 11, p. 1804-14, 2014.
- * Mancia G, Verdecchia P. Clinical value of ambulatory blood pressure: evidence and limits. **Circ Res**, v. 116, n. 6, p. 1034-45, 2015.
- * Mann S, Beedie C, Jimenez A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. **Sports Med**, v. 44, n. 2, p. 211-21, 2014.
- * Manson JE. Current recommendations: what is the clinician to do? **Fertil Steril**, v. 101, n. 4, p. 916-21, 2014.
- * Maranon R, Reckelhoff JF. Sex and gender differences in control of blood pressure. **Clin Sci (Lond)**, v. 125, n. 7, p. 311-8, 2013.
- * Maric-Bilkan C, Gilbert EL, Ryan MJ. Impact of ovarian function on cardiovascular health in women: focus on hypertension. **Int J Womens Health**, v. 6, p. 131-9, 2014.
- * Matsui S, et al. Associations of estrogen and testosterone with insulin resistance in pre- and postmenopausal women with and without hormone therapy. **Int J Endocrinol Metab**, v. 11, n. 2, p. 65-70, 2013.
- * Mattern CO, et al. Maximal lactate steady state declines during aging process. **J Appl Physiol**, v. 95, n. 6, p. 2576-82, 2003.
- * McConell GK, Kingwell BA. Does nitric oxide regulate skeletal muscle glucose uptake during exercise? **Exerc Sport Sci Rev**, v. 34, n. 1, p. 36-41, 2006.
- * McConnell DS, et al. Menopausal transition stage-specific changes in circulating adrenal androgens. **Menopause**, v. 19, n. 6, p. 658-63, 2012.
- * McCredie RJ, et al. Vascular reactivity is impaired in genetic females taking high-dose androgens. **J Am Coll Cardiol**, v. 32, n. 5, p. 1331-5, 1998.
- * McInnes KJ, et al. Association of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type I expression and activity with estrogen receptor β in adipose tissue from postmenopausal women. **Menopause**, v. 19, n. 12, p. 1347-52, 2012.
- * Mena L, et al. A reliable index for the prognostic significance of blood pressure variability. **J Hypertens**, v. 23, n. 3, p. 505-11, 2005.
- * Metzger IF, Sertorio JT, Tanus-Santos JE. Relationship between systemic nitric oxide metabolites and cyclic GMP in healthy male volunteers. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 188, n. 2, p. 123-7, 2006.
- * Michel T, Vanhoutte PM. Cellular signaling and NO production. **Pflugers Arch**, v. 459, n. 6, p. 807-16, 2010.
- * Molmen-Hansen HE, et al. Aerobic interval training reduces blood pressure and improves myocardial function in hypertensive patients. **Eur J Prev Cardiol**, v. 19, n. 2, p. 151-60, 2012.
- * Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. **J Mol Cell Cardiol**, v. 31, n. 1, p. 61-74, 1999.

- * Montalcini T, et al. Endogenous testosterone and endothelial function in postmenopausal women. **Coron Artery Dis**, v. 18, n. 1, p. 9-13, 2007.
- * Moreau KL, et al. Essential role of estrogen for improvements in vascular endothelial function with endurance exercise in postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 98, n. 11, p. 4507-15, 2013.
- * Murad F. The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system for intracellular and intercellular communication. **Recent Prog Horm Res**, v. 49, p. 239-48, 1994.
- * Neri I, et al. L-arginine supplementation in women with chronic hypertension: impact on blood pressure and maternal and neonatal complications. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 23, n. 12, p. 1456-60, 2010.
- * O'Leary CB, et al. Response of testosterone to prolonged aerobic exercise during different phases of the menstrual cycle. **Eur J Appl Physiol**, v. 113, n. 9, p. 2419-24, 2013.
- * Ong KL, et al. Gender difference in blood pressure control and cardiovascular risk factors in Americans with diagnosed hypertension. **Hypertension**, v. 51, n. 4, p. 1142-8, 2008.
- * Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, v. 327, n. 6122, p. 524-6, 1987.
- * Patacchioli FR, et al. Menopause, mild psychological stress and salivary cortisol: influence of long-term hormone replacement therapy (HRT). **Maturitas**, v. 55, n. 2, p. 150-5, 2006.
- * Patel SM, et al. Higher serum testosterone concentration in older women is associated with insulin resistance, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 94, n. 12, p. 4776-84, 2009.
- * Patil RD, DiCarlo SE, Collins HL. Acute exercise enhances nitric oxide modulation of vascular response to phenylephrine. **Am J Physiol**, v. 265, n. 4, Pt 2, p. H1184-8, 1993.
- * Peeke PM, Chrousos GP. Hypercortisolism and obesity. **Ann N Y Acad Sci**, v. 771, p. 665-76, 1995.
- * Pescatello LS, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 3, p. 533-53, 2004.
- * Phillips GB, et al. Association of hyperandrogenemia and hyperestrogenemia with type 2 diabetes in Hispanic postmenopausal women. **Diabetes Care**, v. 23, n. 1, p. 74-9, 2000.
- * Poveda JJ, et al. Contribution of nitric oxide to exercise-induced changes in healthy volunteers: effects of acute exercise and long-term physical training. **Eur J Clin Invest**, v. 27, p. 967-71, 1997.
- * Puga GM, Novais IP, Zanesco A. Efeitos terapêuticos da suplementação de L-arginina nas doenças cardiovasculares e endócrino-metabólicas. **Arq Med**, v. 25, n. 3, p. 107-14, 2011.
- * Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. **Free Radic Biol Med**, v. 44, n. 2, p. 153-9, 2008.
- * Radak Z, et al. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. **Antioxid Redox Signal**, v. 18, n. 10, p. 1208-46, 2013.
- * Rao SP, Collins HL, DiCarlo SE. Postexercise alpha-adrenergic receptor hyporesponsiveness in hypertensive rats is due to nitric oxide. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 282, n. 4, p. R960-8, 2002.
- * Reckelhoff JF, Fortepiani LA. Novel mechanisms responsible for postmenopausal hypertension. **Hypertension**, v. 43, n. 5, p. 918-23, 2004.
- * Reckelhoff JF. Gender differences in the regulation of blood pressure. **Hypertension**, v. 37, n. 5, p. 1199-208, 2001.
- * Rochette L, et al. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: possible therapeutic targets? **Pharmacol Ther**, v. 140, n. 3, p. 239-57, 2013.
- * Roque FR, et al. Exercise training and cardiometabolic diseases: focus on the vascular system. **Curr Hypertens Rep**, v. 15, n. 3, p. 204-14, 2013.
- * Rosmond R, Björntorp P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity as a predictor of cardiovascular disease, type 2 diabetes and stroke. **J Intern Med**, v. 247, n. 2, p. 188-97, 2000.

- * Rossouw JE, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. **JAMA**, v. 288, n. 3, p. 321-33, 2002.
- * Sanches IC, et al. Cardiometabolic benefits of exercise training in an experimental model of metabolic syndrome and menopause. **Menopause**, v. 19, n. 5, p. 562-8, 2012.
- * Saxena AR, Seely EW. Luteinizing hormone correlates with adrenal function in postmenopausal women. **Menopause**, v. 19, n. 11, p. 1280-3, 2012.
- * Schmitt ACB, Cardoso MRA, Aldrighi JM. Tendências da mortalidade em mulheres brasileiras no climatério. **Rev Bras Cres Desenvol Hum**, v. 18, p. 11-5, 2009.
- * Schnabel R, et al. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. **Circ Res**, v. 97, n. 5, p. e53-9, 2005.
- * Seeman TE, et al. Gender differences in age-related changes in HPA axis reactivity. **Psychoneuroendocrinology**, v. 26, n. 3, p. 225-40, 2001.
- * Sessa WC, et al. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. **Circ Res**, v. 74, n. 2, p. 349-53, 1994.
- * Shao A, Hathcock JN. Risk assessment for the amino acids taurine, L-glutamine and L- arginine. **Regul Toxicol Pharmacol**, v. 50, n. 3, p. 376-99, 2008.
- * Shelley JM, et al. Relationship of endogenous sex hormones to lipids and blood pressure in mid-aged women. **Ann Epidemiol**, v. 8, n. 1, p. 39-45, 1998.
- * Shimbo D, et al. The effect of hormone therapy on mean blood pressure and visit-to-visit blood pressure variability in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative randomized controlled trials. **J Hypertens**, v. 32, n. 10, p. 2071-81, 2014.
- * Siasos G, et al. L-Arginine, the substrate for NO synthesis: an alternative treatment for premature atherosclerosis? **Int J Cardiol**. v. 116, n. 3, p. 300-8, 2007.
- * Signorelli SS, et al. Behaviour of some indicators of oxidative stress in postmenopausal and fertile women. **Maturitas**, v. 53, n. 1, p. 77-82, 2006.
- * Simkin-Silverman L, et al. Prevention of cardiovascular risk factor elevations in healthy premenopausal women. **Prev Med**, v. 24, n. 5, p. 509-17, 1995.
- * Simões HG, et al. Lactate threshold prediction by blood glucose and rating of perceived exertion in people with type 2 diabetes. **Percept Mot Skills**, v. 111, n. 2, p. 365-78, 2010.
- * Simões HG, et al. Methods to identify the anaerobic threshold for type-2 diabetic and non-diabetic subjects. **Arq Bras Cardiol**, v. 94, n. 1, p. 71-8, 2010.
- * Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol**, v. 95, n. 1, supl. 1, p. 1-51, 2010.
- * Sponton CH, et al. Women with TT genotype for eNOS gene are more responsive in lowering blood pressure in response to exercise. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 17, n. 6, p. 676-81, 2010.
- * Stehr MD, von Lengerke T. Preventing weight gain through exercise and physical activity in the elderly: a systematic review. **Maturitas**, v. 72, n. 1, p. 13-22, 2012.
- * Steiner G, et al. Hyperinsulinemia and in vivo very-low-density lipoprotein-triglyceride kinetics. **Am J Physiol**, v. 246, n. 2, Pt 1, p. E187-92, 1984.
- * Straub RH. The complex role of estrogens in inflammation. **Endocr Rev**, v. 28, n. 5, p. 521-74, 2007.
- * Swift DL, et al. The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 56, n. 4, p. 441-7, 2014.
- * Sydow K, Münzel T. ADMA and oxidative stress. **Atheroscler Suppl**, v. 4, n. 4, p. 41-51, 2003.
- * Tangphao O, et al. Pharmacokinetics of intravenous and oral L-arginine in normal volunteer. **Br J Clin Pharmacol**, v. 47, n. 3, p. 261-6, 1999.

- * Thijssen DH, et al. Impact of inactivity and exercise on the vasculature in humans. **Eur J Appl Physiol**, v. 108, n. 5, p. 845-75, 2010.
- * Tostes RC, et al. Effects of estrogen on the vascular system. **Braz J Med Biol Res**, v. 36, n. 9, p. 1143-58, 2003.
- * Tsai PH, et al. Effects of arginine supplementation on post-exercise metabolic responses. **Chin J Physiol**, v. 52, n. 3, p. 136-42, 2009.
- * Turner SW, et al. L-arginine prevents corticotropin-induced increases in blood pressure in the rat. **Hypertension**, v. 27, n. 2, p. 184-9, 1996.
- * Valassi E, et al. Adipokines and cardiovascular risk in Cushing's syndrome. **Neuroendocrinology**, v. 95, n. 3, p. 187-206, 2012.
- * Van Cauter E, Leproult R, Kupfer DJ. Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 81, n. 7, p. 2468-73, 1996.
- * Vanhoutte PM. Endothelial control of vasomotor function: from health to coronary disease. **Circ J**, v. 67, n. 7, p. 572-5, 2003.
- * Varughese AG, Nimkevych O, Uwaifo GI. Hypercortisolism in obesity-associated hypertension. **Curr Hypertens Rep**, v. 16, n. 7, p. 443, 2014.
- * Veldhuis JD, Sharma A, Roelfsema F. Age-dependent and gender-dependent regulation of hypothalamic-adrenocorticotrophic-adrenal axis. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 42, n. 2, p. 201-25, 2013.
- * Vicennati V, et al. Sex difference in the relationship between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and sex hormones in obesity. **Obesity (Silver Spring)**, v. 14, n. 2, p. 235-43, 2006.
- * Wallerath T, et al. Down-regulation of the expression of endothelial NO glucocorticoid-mediated hypertension. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 96, n. 23, p. 13357-62, 1999.
- * Walther C, Gielen S, Hambrecht R. The effect of exercise training on endothelial function in cardiovascular disease in humans. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 32, n. 4, p. 129-34, 2004.
- * Wassertheil-Smoller S, et al. Effect of estrogen plus progestin on stroke in postmenopausal women: the Women's Health Initiative: a randomized trial. **JAMA**, v. 289, n. 20, p. 2673-84, 2003.
- * Wassertheil-Smoller S, et al. Hypertension and its treatment in postmenopausal women: baseline data from the Women's Health Initiative. **Hypertension**, v. 36, n. 5, p. 780-9, 2000.
- * Weismiller DG. Menopause. **Prim Care**, v. 36, n. 1, p. 199-226, 2009.
- * Whitworth JA, Mangos GJ, Kelly JJ. Cushing, cortisol, and cardiovascular disease. **Hypertension**, v. 36, n. 5, p. 912-6, 2000.
- * Williamson PM, et al. Acute effects of hydrocortisone on plasma nitrate/nitrite activity and forearm vasodilator responsiveness in normal human subjects. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 32, n. 3, p. 162-6, 2005.
- * Wilson JR, Kapoor SC. Contribution of prostaglandins to exercise-induced vasodilation in humans. **Am J Physiol**, v. 265, n. 1, Pt 2, p. H171-5, 1993.
- * Wu G, Morris SM Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochem J**, v. 336, Pt 1, p. 1-17, 1998.
- * Xavier HT, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**, v. 101, n. 4, supl .1, 2013.
- * Yamatani H, et al. Association of estrogen with glucocorticoid levels in visceral fat in postmenopausal women. **Menopause**, v. 20, n. 4, p. 437-42, 2013.
- * Yen SS, Laughlin GA. Aging and the adrenal cortex. **Exp Gerontol**, v. 33, n. 7-8, p. 897-910, 1998.
- * Zago AS, Zanesco A. Óxido nítrico, doenças cardiovasculares e exercício físico. **Arq Bras Cardiol**, v. 87, n. 6, p. e264-70, 2006.
- * Zanesco A, Antunes E. **Células endoteliais**. In: Hernandez F. Carvalho; Carla B. Collares-Buzato. (Eds). *Células*. São Paulo: Manole, 2005.

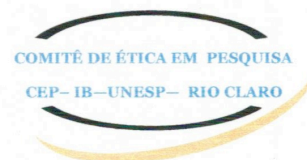
- * Zanesco A, Antunes E. Effects of exercise training on the cardiovascular system: pharmacological approaches. **Pharmacol Ther**, v. 114, n. 3, p. 307-17, 2007.
- * Zanesco A, Zaros PR. Exercício físico e menopausa. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 31, n. 5, p. 254-61, 2009.
- * Zhao Z, et al. Serum estradiol and testosterone levels in kidney stones disease with and without calcium oxalate components in naturally postmenopausal women. **PLoS One**, v. 8, n. 9, p. e75513, 2013.

19. ANEXOS

19.1) Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências - Unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Rio Claro



DECISÃO CEP Nº 065/2010

Instituição: UNESP – IB – CRC	Departamento: Educação Física
Protocolo nº: 4395	REGISTRO CEP: 12.07.2010
Projeto de Pesquisa: "Influência da suplementação em L-arginina associada ao exercício físico nos níveis plasmáticos de nitrito/nitrato, GMPC e cortisol em mulheres na menopausa"	

Pesquisa Individual	Pesquisador Responsável: -.-
---------------------	------------------------------

Pesquisa Alunos de Graduação	Pesquisador Responsável: -.-
	Orientando: -.-

Pesquisa Alunos de Pós-Graduação	Pesquisador Responsável: Iane de Paiva Novais
	Orientador(a): Profa.Dra. Angelina Zanesco

Objetivo Acadêmico:	<input type="checkbox"/> TCC <input type="checkbox"/> Mestrado <input checked="" type="checkbox"/> Doutorado <input type="checkbox"/> Outros (especificar)
---------------------	---

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Rio Claro, em sua 10ª reunião extraordinária, realizada em 17/08/2010.

<input checked="" type="checkbox"/>	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
<input type="checkbox"/>	Aprovou desde que atendidas as pendências apontadas na reunião (vide anexo), aprova o Projeto de Pesquisa acima citado.
<input type="checkbox"/>	Referendou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
<input type="checkbox"/>	Aprovou retornar ao interessado para atendimento das pendências encontradas (prazo máximo de 60 dias):
<input type="checkbox"/>	Não Aprovou.
<input type="checkbox"/>	Retirou , devido à permanência das pendências.
<input type="checkbox"/>	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado e o encaminha , com o devido parecer, para apreciação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa- CONEP/MS , por se tratar de um dos casos previstos no capítulo VIII, item 4.c.

➤ "Formulário para Acompanhamento dos Protocolos de Pesquisa Aprovados"
Data de Entrega: Setembro/2014

Rio Claro, 26 de agosto de 2010.

Profa. Dra. Maria Izabel Souza Camargo
Coordenadora do CEP

19.2) Resultados apresentados no Estudo 1

Tabela 15. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre os parâmetros antropométricos em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.

	NT		HT	
	Antes	Após	Antes	Após
Massa Corporal (kg)	67,8 ± 1,6	67,7 ± 1,6	67,8 ± 1,6	67,2 ± 1,6
IMC (kg/m²)	27,1 ± 0,6	27,1 ± 0,6	28,2 ± 0,5	28,0 ± 0,5
Circunf Abdominal (cm)	96,7 ± 1,5	94,9 ± 1,6	97,2 ± 1,7	95,2 ± 1,5
Circunf Cintura (cm)	86,2 ± 1,3	85,3 ± 1,5	88,4 ± 1,7	87,1 ± 1,5
Circunf Quadril (cm)	104,8 ± 1,3	104,6 ± 1,4	105,9 ± 1,4	105,0 ± 1,3
RCQ	0,83 ± 0,01	0,82 ± 0,01	0,84 ± 0,01	0,83 ± 0,01

IMC: Índice de Massa Corporal; Circunf: Circunferência; RCQ: Razão Cintura-Quadril.

Tabela 16. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a intensidade e a concentração de lactato sanguíneo durante a sessão de exercício correspondente à MFEL em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.

	NT		HT	
	Antes	Após	Antes	Após
Intensidade (%)	5,7 ± 0,4	7,9 ± 0,5	5,0 ± 0,4	6,8 ± 0,4
[Lac] Repouso (nmol/L)	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1
[Lac] 10° min (nmol/L)	2,9 ± 0,2	3,0 ± 0,2	3,2 ± 0,2	3,0 ± 0,2
[Lac] 30° min (nmol/L)	2,9 ± 0,2	3,1 ± 0,2	3,3 ± 0,3	3,0 ± 0,3

[Lac]: Concentração de lactato

Tabela 17. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a pressão arterial e frequência cardíaca de repouso em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.

	NT		HT	
	Antes	Após	Antes	Após
PAS (mmHg)	113,6 ± 2,0	112,6 ± 2,1	117,3 ± 2,0	115,3 ± 2,1
PAD (mmHg)	70,4 ± 1,4	69,7 ± 1,3	73,2 ± 1,8	69,9 ± 2,0
FC (bpm)	72,7 ± 1,6	69,7 ± 1,8	69,3 ± 1,9	67,7 ± 1,8

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; FC: Frequência cardíaca.

Tabela 18. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre a via do NO e estresse oxidativo em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.

	NT		HT	
	Antes	Após	Antes	Após
NO_x⁻ (μM)	24,9 ± 2,2	23,3 ± 1,7	26,6 ± 2,6	33,1 ± 3,9
GMPC (pmol/mL)	4,7 ± 0,4	5,1 ± 0,4	4,4 ± 0,3	5,1 ± 0,4
SOD (U/mL)	14,3 ± 1,3	22,6 ± 1,5	14,6 ± 1,5	28,6 ± 2,1
CAT (nmol/min/mL)	48,8 ± 3,5	59,4 ± 8,3	47,8 ± 4,7	82,7 ± 13,5
MDA (μM)	14,3 ± 1,2	14,3 ± 1,0	15,0 ± 1,2	16,1 ± 1,4

NO_x⁻: nitrito/nitrato; GMPC: guanosina monofosfato cíclico; SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; MDA: malondialdeído.

Tabela 19. Efeito do treinamento físico aeróbio sobre os níveis hormonais em voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT) após a menopausa.

	NT		HT	
	Antes	Após	Antes	Após
Cortisol (nmol/L)	464,9 ± 28,7	495,2 ± 26,9	453,6 ± 24,6	463,9 ± 25,9
Testosterona (nmol/L)	0,84 ± 0,09	0,88 ± 0,08	0,79 ± 0,08	0,80 ± 0,06

19.3) Tabela 20. Características qualitativas das voluntárias normotensas (NT) e hipertensas (HT).

	NT	HT
Histórico DCV		
Apresentavam histórico de DCV	21	22
Não apresentavam histórico de DCV	12	6
Motivos para Prática de EF		
Estética	0	0
Saúde	27	24
Recomendação	3	2
Acompanhar	0	0
Outros	1	2
Satisfação Corporal		
Muito Satisfeita	1	3
Satisfeita	22	14
Insatisfeita	6	9
Muito Insatisfeita	2	2
Escolaridade		
Fundamental Incompleto	7	7
Fundamental Completo	4	2
Ensino Médio	6	10
Superior Incompleto	2	0
Superior Completo	12	9

DCV: Doenças cardiovasculares; EF: Exercício físico.

