
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "ATIVIDADE FÍSICA E SAÚDE"**

THAÍS AMANDA REIA

O efeito agudo do exercício físico na concentração plasmática de óxido nítrico e no valor da pressão arterial em idosos com diferentes níveis de condicionamento físico: a influência dos polimorfismos do gene da sintase do óxido nítrico endotelial.

**Bauru - SP
2019**

THAÍS AMANDA REIA

O efeito agudo do exercício físico na concentração plasmática de óxido nítrico e no valor da pressão arterial em idosos com diferentes níveis de condicionamento físico: a influência dos polimorfismos do gene da sintase do óxido nítrico endotelial.

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências do Campus de Bauru, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Ciências da Motricidade.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Saranz Zago

**Bauru - SP
2019**

Reia, Thaís.

O efeito agudo do exercício físico na concentração plasmática de óxido nítrico e no valor da pressão arterial em idosos com diferentes níveis de condicionamento físico: a influência dos polimorfismos do gene da sintase do óxido nítrico endotelial / Thaís amanda Reia, 2019

56 f. : il.

Orientador: Anderson Saranz Zago

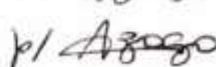
Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, 2019

1. Envelhecimento. 2. Hipertensão arterial. 3. Polimorfismos da eNOS. 4. Exercício físico agudo. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. II. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado de THAÍS AMANDA REIA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 16 dias do mês de dezembro do ano de 2019, às 14:00 horas, no(a) Anfiteatro da Pós-graduação da Faculdade de Ciências, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. ANDERSON SARANZ ZAGO - Orientador(a) do(a) Departamento de Educação Física / UNESP - Faculdade de Ciências de Bauru - SP, Prof. Dr. RICCARDO LACCHINI do(a) Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto / Universidade de São Paulo, Dr. THIAGO JOSÉ DIONÍSIO do(a) Faculdade de Odontologia de Bauru / Universidade de São Paulo, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE Mestrado de THAÍS AMANDA REIA, intitulada **O efeito agudo do exercício físico na concentração plasmática de óxido nítrico e no valor da pressão arterial em idosos com diferentes níveis de condicionamento físico: A influência dos polimorfismos do gene da sintase do óxido nítrico endotelial.** Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: APROVADO. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. ANDERSON SARANZ ZAGO 

Prof. Dr. RICCARDO LACCHINI p/  (video conferência)

Dr. THIAGO JOSÉ DIONÍSIO 

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).



DEDICATÓRIA

À minha família, em especial, aos meus pais Valdelice e Cláudio, meu alicerce. Por nunca pouparem esforços para que meus sonhos se tornassem realidade.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por sempre abençoar meu caminho e minhas escolhas.

À minha mãe, Valdelice e ao meu pai, Cláudio, exemplo de honestidade e determinação. A quem eu sou eternamente grata pela forma como me ensinaram a dar o melhor de mim sempre! Por estarem presentes em todas as etapas desta jornada, nos momentos bons e ruins, sempre acreditando no meu potencial e me dando todo suporte necessário para que eu atingisse meus objetivos. Ao meu irmão, Júnior, pela colaboração quando precisei e por sempre torcer pelo meu sucesso.

As minhas amigas e amigos que perto ou longe, sempre me apoiaram e me incentivaram a correr atrás dos meus sonhos.

Ao meu orientador, prof. Dr. Anderson Saranz Zago, por todos os ensinamentos e direcionamento na composição deste trabalho e, principalmente, por ter confiado em mim e me dado à oportunidade de ser sua aluna.

Aos colegas de laboratório, por estarem sempre dispostos a ajudar e pelo auxílio nas coletas de dados. Ao André Mourão Jacomini pelo auxílio na análise bioquímica e em especial, minha eterna gratidão a Roberta Fernanda da Silva, meu “anjo da guarda” da pós, por nunca hesitar em me ajudar, pela parceria, confiança, companheirismo e amizade verdadeira.

Ao laboratório de Farmacologia e Genética do departamento de Ciências Biológicas da FOB/ USP, em especial, aos profs. Drs. Carlos Ferreira dos Santos e Thiago José Dionísio, pelo auxílio na análise genética.

Ao laboratório de Farmacologia do Departamento de Farmacologia da FMRP/USP, em especial, ao prof. Dr. Riccardo Lacchini e as alunas Sherliane Pereira e Letícia Ferezin pelo auxílio na análise genética.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Motricidade (UNESP/Bauru) e a todos os envolvidos, por sempre me auxiliarem quando precisei.

A todos os idosos que participaram desta pesquisa, sempre com muita confiança, alegria e compreensão.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Imensa gratidão por todos, que de alguma forma, acreditaram no meu potencial e contribuíram para a realização deste trabalho.

“Sejamos gratos, pois se não aprendemos muito hoje, pelo menos aprendemos um pouco; se não aprendemos um pouco, pelo menos não ficamos doentes; e se ficamos doentes, pelo menos não morremos; portanto, sejamos todos gratos.”

(SIDARTHA GAUTAMA).

RESUMO

Concomitantemente ao crescente número de idosos tem se observado o aumento de problemas de saúde, entre os quais, a hipertensão arterial (HA) se destaca como doença de maior prevalência na população idosa. Considerando que a variação genética tem alta influência sobre o desenvolvimento da HA, pesquisas vem sendo desenvolvidas com o objetivo de identificar os genes que participam de sua etiologia. Partindo desse pressuposto, alguns polimorfismos são estudados, dentre eles, os polimorfismos do gene da Sintase do Óxido Nítrico Endotelial (eNOS). Embora a maioria dos estudos demonstre os benefícios decorrentes da prática regular de exercícios físicos para contrapor os efeitos deletérios dos polimorfismos do gene da eNOS, bem como a produção de Óxido Nítrico (NO) e controle da pressão arterial (PA), ainda é pouco esclarecido o efeito agudo do exercício físico sobre tais variáveis. Desse modo, o objetivo deste estudo foi analisar o efeito agudo do exercício físico na concentração de NO e nos valores de PA em idosos com diferentes níveis de condicionamento físico (CF) e, também, verificar se os polimorfismos do gene da eNOS exercem influência sobre essas respostas. Após passarem pelos critérios de elegibilidade, 145 idosos de ambos os sexos, com idade entre 60 a 80 anos foram submetidos a avaliações hemodinâmicas, antropométricas, bioquímicas, genéticas e físicas. O protocolo de intervenção foi composto por uma caminhada de 40 min (40-60% $VO_{2máx}$ previamente determinado) realizada em esteira ergométrica, com coletas sanguíneas nos momentos pré e pós-teste, com o objetivo de mensurar a concentração plasmática de nitrito (NO_2^-), biomarcadores de estresse oxidativo (TBARS) e medidas de PA nos momentos pré e pós-teste. Foi realizada ANOVA de duas vias para medidas repetidas com pós-teste de SIDAK para detectar diferença ($p < 0,05$) entre os grupos (G1- condicionamento físico bom; G2- condicionamento físico fraco) e os momentos (pré e pós-caminhada). Posteriormente, foi feita análise de regressão linear multivariada para verificar a influência dos polimorfismos do gene da eNOS sobre as respostas de NO_2^- e PA. Não houve diferença significativa para os valores de NO_2^- e PAD em nenhum momento para ambos os grupos. Já para os valores de TBARS, o G2 apresentou um aumento significativo pós-exercício físico ($p = 0,008$). Houve um aumento significativo na PAS pós-exercício físico para os dois grupos ($p < 0,001$). O G2 apresentou maior valor de PAS no momento pós-exercício físico ($p = 0,038$). Os polimorfismos 894G>T e o intron 4 b/a não apresentaram influência sobre as respostas de NO_2^- , TBARS e PA, entretanto, o polimorfismo -786T>C apresentou influência significativa apenas para PA. O genótipo homocigoto (TT) apresentou associação inversa sobre os valores de PAS e PAD, enquanto o heterocigoto (TC) apresentou associação positiva para PAD. Maior nível de CF também apresentou influência para menor valor de PA. Destaca-se a importância de se adotar um estilo de vida ativo, visto que os idosos com bons níveis de CF tiveram menores valores de PA e estresse oxidativo imediatamente após a sessão de exercício físico, concluindo que a manutenção de bons níveis de CF pode ter um efeito protetor para riscos cardiovasculares.

Palavras-chave: Envelhecimento. Hipertensão arterial. Polimorfismos da eNOS. Exercício físico agudo. Óxido nítrico.

ABSTRACT

Concomitantly with the increasing number of elderly people, it has been observed an increase of health problems, such as hypertension (HA) which stands out as the most prevalent disease in older population. Genetic variation has been associated with a high influence on development of HA, and scientific research has been developed with the objective to identify the genes that participate in its etiology. Based on this background, some polymorphisms are studied, such as the polymorphisms of Endothelial Nitric Oxide Synthase gene (eNOS). Although most studies point to the benefits of regular physical exercise to counteract the deleterious effects of the polymorphisms of eNOS gene, as well as nitric oxide (NO) production and blood pressure control (BP), the effect of acute exercise is still poorly understood. Thus, the purpose of this study was analyze the acute effect of physical exercise on NO concentration and BP values in elderly with different level of training status (TS) and also verify the influence of polymorphisms of eNOS gene on these variables. After passing the eligibility criteria, 145 elderly men and women, aged 60 to 80 years old, underwent hemodynamic, anthropometric, biochemical, genetic and physical evaluations. The intervention protocol consisted of a 40 min walk (40-60% previously determined VO_{2max}) performed on a treadmill, with blood collections at the pre and post-test moments, with the objective of measuring nitrite plasma (NO_2^-), oxidative stress biomarkers (TBARS) and BP measurements at the pre and post-test moments. ANOVA Two-way was performed for repeated measures with pos hoc test SIDAK to control the difference ($p < 0.05$) between groups (G1 - good TS; G2 - poor TS) and the moments (pre and post-exercise). Subsequently, a linear multivariate analysis was constructed to verify the influence of polymorphisms eNOS gene polymorphisms on NO_2^- and PA responses. There was no significant difference for NO_2^- and DBP values at any time for both groups. As for TBARS values, G2 showed significant increase after physical exercise ($p = 0.008$). There were significant increase in SBP after exercise for both groups ($p < 0.001$). And G2 presented higher SBP value after exercise ($p = 0.038$). Polymorphisms 894G>T e o intron 4 b/a had no influence on NO_2^- and BP responses. However, the -786T> C polymorphism had a significant influence on BP. The homozygous genotype (TT) showed an inverse association with SBP and DBP values, while the heterozygote (TC) showed a positive association for DBP. Higher TS level also influenced lower BP. The importance of an active lifestyle is emphasized, since the elderly with good TS levels had lower BP values and oxidative stress immediately after the exercise session, concluding that the maintenance of good TS levels may have a protective effect for cardiovascular risks.

Keywords: Aging. Hypertension. eNOS polymorphisms. Acute physical exercise. Nitric oxide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula para cálculo amostral.....	23
Figura 2 - Processo de seleção dos participantes.....	24
Figura 3 - Sequência de avaliações do estudo	25
Figura 4 - Genotipagem do Intron 4b/a em gel poliacrilamida a 12%	29
Figura 5 - Sequência de avaliações durante o protocolo de intervenção.....	30
Figura 6 - Efeito agudo do exercício físico na concentração de NO ₂ ⁻ , valores de PAS, PAD e TBARS em idosos com diferentes níveis de condicionamento físico.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos participantes de acordo com o nível de condicionamento físico	33
Tabela 2 - Perfil genético dos participantes de acordo com o nível de condicionamento físico	35
Tabela 3 - Associação de variáveis de caracterização e genótipos da eNOS no modelo de herança aditiva sobre os valores de NO ₂ -, PAS e PAD	36

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

μL	Micro litro
μM	Micrômetro
A	Adenina
AA	Homozigoto de maior risco do polimorfismo no intron 4 do gene da eNOS
ATP	Adenosina Trifosfato
BA	Heterozigoto do polimorfismo no intron 4 do gene da eNOS
BB	Homozigoto ancestral do polimorfismo intron 4 do gene da eNOS
BH_4	Cofator Tetra-Hidrobiopterina
C	Citosina
CC	Circunferência da Cintura
CC	Homozigoto mutado do polimorfismo 786T>C do gene da eNOS
CEDEE Exercício Físico	Centro de Estudos de Doenças Não Transmissíveis, Envelhecimento e Exercício Físico
CF	Condicionamento Físico
CM	Centímetros
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DNTP	Desoxirribonucleotídeos Trifosfatofosfato.
ENOS	Sintase Endotelial do Óxido Nítrico
EROS	Espécies Reativas do Oxigênio
FC	Frequência Cardíaca
G	Guanina
G1	Grupo com Nível de Condicionamento Físico bom
G2	Grupo com Nível de Condicionamento Físico fraco
GCs	Guanilato Ciclase Solúvel
GG	Homozigoto ancestral do polimorfismo 894G>T do gene da eNOS
GMPc	Monofosfato Cíclico de Guanosina intracelular
GT	Heterozigoto do polimorfismo 894G>T do gene da eNOS
HA	Hipertensão Arterial
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IMC	Índice de Massa Corporal
KG	Quilograma

KM/H	Quilômetro por Hora
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MG	Miligrama
MG/DL	Miligrama por decilitro
MG/PROTEÍNA	Miligrama por proteína
ML	Mililitro
N	Número de participantes
NMOL/L	Nanomol por Litro
NO	Óxido Nítrico
NO ₂	Nitrito
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PB	Pares de Bases
RTPCR	Reação em Cadeia Polimerase em Tempo Real
RCQ	Relação Cintura-Quadril
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
T	Timina
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TC	Heterozigoto do polimorfismo 786T>C do gene da eNOS
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TT	Homozigoto ancestral do polimorfismo 786T>C do gene da eNOS
TT	Homozigoto de maior risco do polimorfismo 894G>T do gene da
eNOS	
UNFPA	Fundo de População das Nações Unidas
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats
VO _{2MAX}	Volume de Oxigênio Máximo
X ²	Chi Quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	21
3 OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
5 MATERIAIS E MÉTODOS	23
5.1 AMOSTRA	23
5.1.1 Cálculo amostral.....	23
5.1.2 Critérios de inclusão e exclusão	23
5.2 DELINEAMENTO	24
5.3 AVALIAÇÕES	26
5.3.1 Avaliação Hemodinâmica	26
5.3.2 Avaliação Antropométrica	26
5.3.3 Avaliação Bioquímica e Genética	27
5.3.4 Avaliação Física	29
5.3.5 Protocolo de Intervenção	30
5.3.6 Análise Estatística	31
6 RESULTADOS	32
7 DISCUSSÃO	37
8 LIMITAÇÃO DO ESTUDO	42
9 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	44
ANEXO I - Teste Ergométrico Submáximo (determinação do $VO_{2máx}$)	48
APÊNDICES	49
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	49
APÊNDICE B - Parecer Consubstanciado do Cep	51
APÊNDICE C - Anamnese	54
APÊNDICE D - Exercício Físico Agudo	56

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a longevidade tem sido apontada como uma das transformações demográficas mais significativas do século XXI, caracterizando o envelhecimento como um fenômeno universal (ONU, 2012). Nos países desenvolvidos e em desenvolvimento vem ocorrendo redução proporcional da população jovem, enquanto ocorre aumento do número absoluto de idosos. Este fenômeno tem se explicado por vários fatores, entre os principais estão o declínio nas taxas de natalidade, o aumento na expectativa de vida e à redução da mortalidade (LIN et al., 2012).

De acordo com o relatório realizado pelo Fundo de População das Nações Unidas (UNFPA), em 2000 já havia no mundo mais pessoas com idade igual ou superior a 60 anos comparadas a crianças menores que 5 anos e, projeções apontam que até meados de 2050 esse quadro se acentuará. Pela primeira vez na história da humanidade haverá mais pessoas desse grupo etário do que crianças menores que 15 anos (ONU, 2012).

Evidências de uma população progressivamente mais idosa repercutem diretamente na sociedade moderna devido à grande demanda por mudanças estruturais, principalmente àquelas destinadas à área de saúde pública. À medida que o número de idosos cresce, aumentam exponencialmente os problemas de saúde, entre os quais, a hipertensão arterial (HA) se destaca como a doença de maior prevalência na população idosa (CIPULLO et al., 2010; PEREIRA; BARRETO; PASSOS, 2008).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a HA é uma doença que demanda grande preocupação dos profissionais da área da saúde, pois está associada às doenças cardiovasculares e aos acidentes vasculares cerebrais, os quais somam a principal causa de morte mundial. A HA afeta aproximadamente 1 bilhão de pessoas em todo o mundo, contribuindo para 9,4 milhões de mortes por doenças cardiovasculares por ano, sendo considerada um problema de saúde pública em âmbito mundial (WHO, 2012). No Brasil, estudos revelaram que a prevalência da HA variou entre 22,3% e 43,9% com média de 32,5%, sendo observados valores mais elevados nos grupos de maior idade, atingindo cerca de 50% dos indivíduos entre 60 e 69 anos e mais de 70% daqueles acima de 70 anos, o que enfatiza o envelhecimento como um fator alarmante para sua ocorrência (CLAUDIA B. CESARINO et al., 2008; ROSÁRIO et al., 2009; SBH, 2010).

O desenvolvimento da HA não ocorre por uma causa isolada, mas por um conjunto de fatores que podem aumentar a probabilidade de desencadeá-la. São conhecidos diversos fatores que podem contribuir para elevação da pressão arterial (PA), tais como, idade, sexo, histórico familiar, estresse, diabetes mellitus, tabagismo, excesso de peso, sedentarismo, consumo excessivo de sal, álcool e café (CHALMERS et al., 1999). Além desses fatores de riscos, a PA também pode ser uma característica hereditária e as estimativas apontam que 15% a 60% dos valores de pressão arterial

sistólica e diastólica podem ser atribuídos a fatores genéticos (NORTON; BROOKSBANK; WOODIWISS, 2010). Desta forma, a HA é considerada um distúrbio de mecanismos multifatoriais, pois resulta da interação entre variáveis ambientais, psicológicas e genéticas (PARATI et al., 2013).

Considerando que o histórico genético tem alta influência sobre o desenvolvimento da HA, estudos vem sendo realizados com o objetivo de identificar os genes que participam de sua etiologia. É de notório saber científico que os cromossomos homólogos em uma determinada espécie apresentam similaridade entre si, porém em qualquer posição dos cromossomos pode ocorrer variação na sequência do DNA. A ocorrência dessa variação em uma frequência estável em pelo menos 1% da população é denominada polimorfismo. Esses polimorfismos são divididos em três grandes grupos: polimorfismos de base única (*single nucleotide polymorphisms* - SNPs), variação no número de repetições de sequências específicas (microsatélites e *variable number of tandem repeats* - VNTRs) e inserções ou deleções de sequências gênicas específicas. Além de serem responsáveis pela diversidade das características individuais, os polimorfismos também podem influenciar diretamente os fatores de riscos associados às doenças multifatoriais (KAPRIO et al., 1991).

Partindo desse pressuposto, Gonçalves (2002) constatou que alguns polimorfismos podem interferir nos valores de PA, em especial, os polimorfismos do gene da sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS) (CAMPO et al., 2005). Esse gene, responsável pela codificação da eNOS, é expresso pelas células endoteliais tanto de vasos centrais como periféricos. Se localiza no cromossomo 7 da região 35 até 36 (7q35-36), apresenta 26 exons, 25 introns e um tamanho total aproximado de 21 kilobases. (MARSDEN et al., 1993). Uma vez que a eNOS possui importante função para o controle cardiovascular, principalmente para o mecanismo de vasodilatação, a presença de polimorfismos no gene que a codifica exerce grande influência no controle do tônus vascular, podendo diminuir a produção de substâncias vasodilatadoras, em especial, o óxido nítrico (NO), aumentando assim a resistência vascular e interferindo diretamente nos valores pressóricos (DOMINICZAK; BOHR, 1995; GONÇALVEZ, 2002; TANG et al., 2008). Desde a sua caracterização foram identificados alguns sítios que apresentam polimorfismos, os quais atuam de forma diferenciada na produção e/ou na expressão de eNOS no endotélio. Esses polimorfismos, incluindo VNTRs e SNPs, são as variações clinicamente relevantes mais estudadas do gene da eNOS e associadas com o risco de desenvolver HA (COOKE; DOSHI; BINKLEY, 2007).

Pesquisas relatam que um SNP identificado na região promotora do gene eNOS, o qual consiste na substituição de uma timina por uma citosina no códon 786 (-786T>C - rs2070744), pode culminar em uma redução significativa da atividade enzimática na região e, conseqüentemente, baixa produção de NO, o que pode explicar sua associação com o risco de HA. Essa variação também é frequentemente associada às doenças coronarianas (EGUCHI et al., 2000).

Outro SNP estudado localiza-se na região exon 7 do gene da eNOS, o qual é caracterizado na conversão da guanina pela timina na posição 894 do gene (894G>T - rs1799983) e conseqüentemente, promove substituição de um aminoácido glutamato por um aspartato na posição 298 da proteína. Esse polimorfismo está associado a menor produção de NO em indivíduos que possuem o alelo Asp, devido a menor disponibilidade da eNOS nas células endoteliais (CASAS et al., 2004; COOKE et al., 2007; EGUCHI et al., 2000). Ademais, outro estudo mostrou que este polimorfismo desempenha um papel importante na regulação da PA e pode ser um fator de risco de HA (SHANKARISHAN et al., 2014).

Um terceiro polimorfismo estudado é um VNTR (intron 4 b/a - rs61722009) do gene da eNOS, localizado no intron 4 (repetição de 27pb), o qual dois alelos tem sido identificados: o alelo menor (alelo a, mais raro) possui quatro repetições sequenciais de 27 pares de bases e o alelo maior (alelo b, mais comum) apresenta cinco cópias (WANG et al., 1996). O alelo raro foi relacionado a baixos níveis plasmáticos de nitrito/nitrato, no qual os indivíduos homozigotos para esse alelo (4a/a) apresentaram redução de 20% na concentração desses metabólitos do NO quando comparados com indivíduos com genótipos 4b/b (TSUKADA et al., 1998). Evidências apontam que indivíduos com genótipos 4a/a foram associados a um risco maior de HA em comparação aos genótipos 4b/a e 4b/b (SHANKARISHAN et al., 2014).

Desta forma, a redução da expressão ou da atividade da eNOS provocada pelas variações do gene, conforme citado anteriormente, estariam prejudicando a homeostasia do sistema, resultando em menor produção de NO e conseqüentemente, aumento nos valores de PA.

A produção de NO pode ocorrer a partir de estímulos químicos ou físicos. Os estímulos químicos são originados da interação de agonistas endógenos / exógenos com receptores específicos presentes nas células endoteliais, como por exemplo, a acetilcolina, o ATP e a bradicinina. A interação agonista / receptor na célula endotelial promove a formação de inositol trifosfato que induz a liberação de íons de cálcio do retículo endoplasmático e eleva os níveis de cálcio intracelular, formando o complexo cálcio-calmodulina e, assim, ativando a eNOS, a qual irá atuar na L-arginina gerando a formação de NO pelo endotélio (MONCADA, 1997). O estímulo físico é gerado pela força que o sangue exerce sobre a parede das artérias, denominada *shear stress*. Há evidências que as células endoteliais possuem mecanorreceptores que podem ativar diretamente as proteínas G, os canais iônicos e as enzimas do grupo das proteínas quinases e fosfatases promovendo a formação de segundos mensageiros. Uma vez produzido, o NO deixa sua célula geradora e difunde-se para sua célula alvo, ou seja, atravessa o espaço do endotélio para a célula de músculo liso vascular estimulando diretamente a enzima catalítica guanilato ciclase solúvel (GCs) e a conseqüente formação de monofosfato cíclico de guanosina intracelular (GMPc), o qual induz a ativação da bomba de cálcio reduzindo as concentrações de cálcio intracelular, promovendo o

relaxamento do tônus vascular (FARREL; BLAKE, 1996; SESSA et al., 1994). Assim, em vasos sanguíneos, o aumento intracelular de GMPc induz à vasodilatação, enquanto nas plaquetas inibirá a agregação plaquetária e nos rins desencadeará um aumento da excreção renal de sódio e diminuição do volume sanguíneo. Esses eventos contribuem para redução da resistência vascular periférica e conseqüentemente, diminuição dos valores de PA (ARNDT et al., 1993).

Interessante ressaltar que além da produção de NO ser comprometida pelas variáveis genéticas, o estresse oxidativo também pode exercer uma importante função na questão de biodisponibilidade, comprometendo a concentração plasmática de NO produzida pela eNOS (PONNUSWAMY et al., 2012). Diversos estudos tem sugerido que o desequilíbrio entre síntese de NO e produção de estresse oxidativo exerce papel significativo na disfunção endotelial (THIJSEN et al., 2011). Segundo a literatura, as espécies reativas do oxigênio (EROS), como o ânion superóxido, pode reagir com NO e promover aumento da formação de peroxinitrito, este aumento pode levar à oxidação do cofator tetra-hidrobiopterina (BH₄) da eNOS, resultando em um desacoplamento dessa enzima. Dessa forma, a eNOS passa a produzir ânion superóxido em maior quantidade em vez de NO, perpetuando um ciclo vicioso, o qual reduz gradativamente a biodisponibilidade de NO (VÁSQUEZ-VIVAR et al., 1998). A inibição da eNOS causada pelo aumento das substâncias pró-oxidantes pode facilitar a formação de trombos e, conseqüentemente, o risco de eventos cardiovasculares (RAMOS et al., 2009).

Portanto, tanto a presença de polimorfismos do gene da eNOS quanto a alta produção de EROS podem interferir diretamente na produção e biodisponibilidade do NO, resultando em maiores valores de PA e, com isto, podendo desencadear um quadro patológico, bem como HA (DOMINICZAK; BOHR, 1995; GONÇALVEZ, 2002; TANG et al., 2008).

Para fazer frente a este preocupante problema de saúde pública, já é de notório saber científico os benefícios decorrentes da prática regular de exercícios físicos para o tratamento da HA. Ainda, a prática de exercícios físicos regulares também vem sendo indicada como ferramenta terapêutica não farmacológica para indivíduos que apresentam o alelo de risco do gene da eNOS.

Evidências apontam que após a quantificação do nível de atividade física em indivíduos que possuem alelos de riscos do gene da eNOS foi observada uma associação inversa entre o risco de HA e nível de atividade física, ou seja, quanto menor era o nível de atividade física dessas pessoas maior foi a prevalência de HA (KIMURA et al., 2003). Estudo realizado por Silva e colaboradores demonstrou que mesmo os indivíduos que apresentaram alelos associados a fatores de risco, a manutenção de bons níveis de condicionamento físico (CF) pôde ser benéfica para manter valores pressóricos normais (DA SILVA et al., 2014).

Além disso, Zago e Zanescio (2006) relataram em um estudo de revisão bibliográfica que a prática regular de exercícios físicos aeróbios apresentou benefícios que podem minimizar os efeitos

deletérios ocasionados pelos polimorfismos do gene da eNOS, pois o exercício por meio do estresse de cisalhamento estimula a produção de NO e, assim, contribui para redução dos valores de PA. Outros pesquisadores também observaram um aumento na expressão gênica da eNOS com a prática regular de exercícios físicos, contribuindo para síntese de NO (HIGASHI et al., 1999). Em adição, o exercício físico regular também é considerado uma boa estratégia para reduzir os riscos cardiovasculares e os níveis de PA devido à sua capacidade de regular a atividade anti e pró-oxidante, a qual promove um equilíbrio entre síntese e degradação, aumentando a biodisponibilidade de NO (MIKHED; DAIBER; STEVEN, 2015; ROBERTS; SINDHU, 2009).

Portanto, os benefícios que a prática regular de exercícios aeróbios apresenta sobre o controle da PA, mesmo em indivíduos que possuem alelos considerados de risco, foram associados principalmente a maior produção de substâncias vasodilatadoras, especialmente o NO, resultando na redução da resistência vascular periférica e, conseqüentemente, redução dos valores de PA. Entretanto, apesar da maioria dos estudos apontar os benefícios da adaptação crônica decorrentes da prática regular de exercícios físicos sobre a HA, pouco se sabe sobre o efeito agudo que o exercício físico exerce sobre a produção de NO e controle da PA.

Desse modo, será que os polimorfismos do gene da eNOS podem influenciar nas concentrações de NO e nos valores de PA em idosos submetidos a uma sessão de exercício físico? Além disso, será que o nível de CF pode contribuir para compensar o provável efeito deletério associado aos polimorfismos do gene da eNOS diante à sessão aguda de exercício físico?

2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Concomitantemente ao crescente número de idosos tem se observado o aumento de problemas de saúde para esta população. Com isso, há uma necessidade de aumentar a demanda por estudos sobre o fenômeno da longevidade, visto que a HA é o fator de risco de maior prevalência nessa faixa etária, ressaltando a necessidade de estudos que objetivam investigar variáveis que contribuem para reduzir sua incidência.

Embora os benefícios decorrentes da prática regular de exercícios físicos para controle dos valores de PA em idosos, que possuem polimorfismos ou não, sejam relatados na literatura, ainda é pouco esclarecido qual o efeito que uma única sessão de exercício físico exerce sobre a síntese de NO nesses indivíduos. Partindo dessas lacunas, qual seria o comportamento do NO diante a sessão aguda de exercício físico? Será que esta variação interfere nos valores de PA e pode contribuir para seu controle durante a sessão de exercício físico?

Além disso, vimos que o histórico genético influencia nos valores pressóricos, portanto, será que diferentes polimorfismos do gene da eNOS expõem idosos a diferentes respostas em termos de concentração de NO diante a sessão aguda de exercício físico? Será que existe uma relação entre nível de CF e concentração de NO durante a sessão aguda de exercício mesmo em idosos que possuam polimorfismos da eNOS?

Desse modo, o presente estudo pode contribuir para uma melhor compreensão das respostas decorrentes do exercício físico agudo e também aprimorar a compreensão referente às adaptações crônicas. Essas evidências poderão servir de suporte para futuras pesquisas e programas de intervenções, permitindo compreender, por exemplo, qual seria o momento ótimo para aplicação de nova sobrecarga, de tal forma que, conhecendo o efeito dose-resposta do exercício físico praticado, sua aplicação e seu planejamento seriam semelhantes à administração de um medicamento com efeito terapêutico esperado.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi analisar o efeito agudo do exercício físico na concentração plasmática de NO₂ e nos valores de PA em idosos com diferentes níveis de condicionamento físico e polimorfismos do gene da eNOS.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A partir do objetivo geral foram desenvolvidos dois objetivos específicos:

1. Verificar a influência dos polimorfismos do gene da eNOS sobre as respostas agudas de NO₂ e PA em idosos após a sessão de exercício físico;
2. Verificar se a manutenção de bons níveis de condicionamento físico pode compensar o provável efeito deletério decorrentes dos polimorfismos nas respostas de NO₂ e PA em idosos após a sessão de exercício físico;

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 AMOSTRA

5.1.1 Cálculo amostral

Este estudo fez parte de um projeto maior intitulado “Análise comparativa dos efeitos do exercício físico agudo e crônico sobre os sistemas biológicos e neurais envolvidos na regulação da pressão arterial e na função vascular de adultos e idosos com diferentes níveis de condicionamento físico” o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências/UNESP-Bauru (nº do parecer 2.422.919 / CAAE 78732617.2.0000.5398 / APÊNDICE B).

Devido à ausência de dados na literatura foram utilizadas informações referentes ao estudo piloto (15 sujeitos) para o cálculo do tamanho amostral. Em decorrência do estudo analisar duas variáveis principais (PA e NO), dois cálculos amostrais foram efetuados e, dessa forma, o de maior valor foi adotado para a realização do estudo. Para determinar o tamanho amostral foi utilizada a fórmula de Miot (2011) para a comparação de dois grupos (amostras pareadas) segundo variável quantitativa (nitrito). Desse modo, a amostra necessária para a realização do estudo foi fixada em no mínimo, 76 participantes.

Figura 1 - Fórmula para cálculo amostral

Variável quantitativa	
Amostra pareada	$n^P = \left(\frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) \cdot Sd}{\bar{D}} \right)^2$
NP – número de pares; $Z_{\alpha/2}$ – valor do erro α , usualmente: 1,96 (5%); Z_{β} - valor do erro β , usualmente: 0,84 (20%); Sd - desvio padrão da diferença entre os pares ($\pm 0,14$) ; D- média da diferença entre os pares (0,04);	

Fonte: Cálculo amostral de Miot, H.A, 2011, adaptada pela autora (2019).

5.1.2 Critérios de inclusão e exclusão

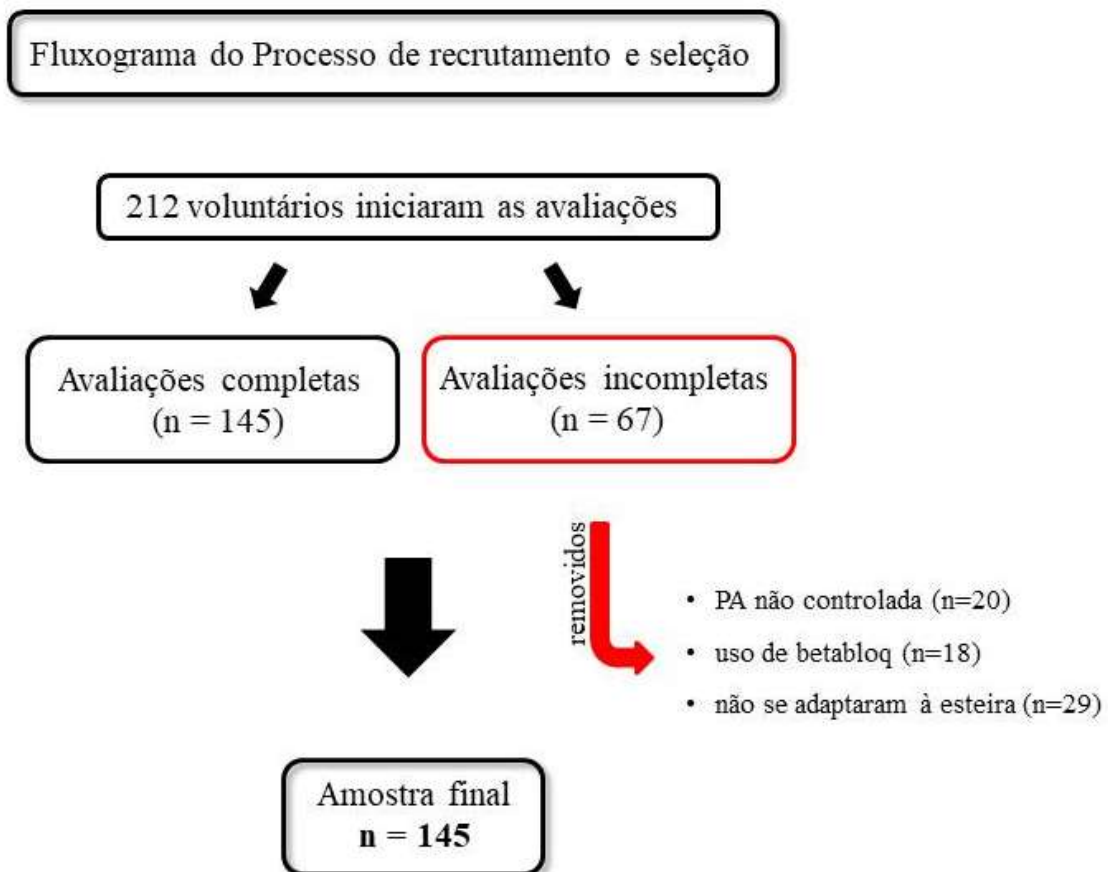
Os participantes foram recrutados por meio de convites a projetos sociais, grupos de terceira idade e anúncios em redes sociais. Foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: não apresentar qualquer condição médica, cardiológica, músculo esquelética ou ortopédica que comprometa a realização das avaliações; ter idade entre 60 e 80 anos; não fumantes; não

consumir regularmente bebidas alcoólicas (limite de 2 doses diárias); não fazer uso de medicação conhecida que afete o metabolismo de glicose ou a hemodinâmica renal. Ainda, foram excluídos do estudo os participantes que apresentaram valores de PA superior a 160/95 mmHg no dia do teste, faziam uso de medicamentos da classe de betabloqueadores, não se adaptaram à esteira (dor articular, insegurança e exaustão) e os participantes que não realizaram todas as avaliações.

Inicialmente foram recrutados 212 voluntários para as avaliações e após serem aplicados os critérios de elegibilidade foram selecionados para este estudo 145 participantes (figura 2).

A presente pesquisa considerada de caráter transversal foi realizada na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho localizada no campus de Bauru (UNESP/Bauru).

Figura 2 - Processo de seleção dos participantes



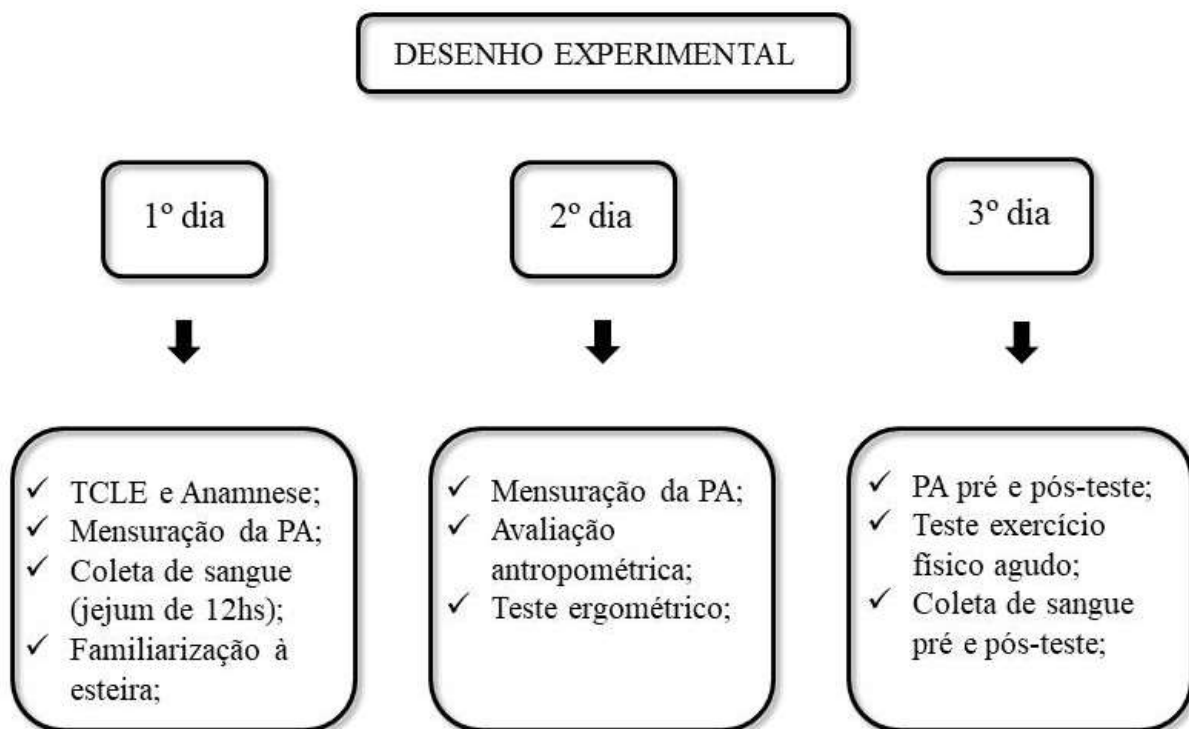
Fonte: elaborado pela autora (2019)

5.2 DELINEAMENTO

Os participantes foram convidados a comparecer ao laboratório “Centro de Estudos de Doenças Não Transmissíveis, Envelhecimento e Exercício Físico (CEDEE)” em três dias diferentes não consecutivos, conforme ilustrado na figura 3. Inicialmente os participantes assinaram o termo

de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A) após terem todas as dúvidas respondidas e esclarecidas pelo pesquisador responsável e, em seguida, responderam uma anamnese com o objetivo de coletar informações pessoais, tais como, situação econômica, grau de escolaridade, condições mórbidas, uso de terapia medicamentosa regular, sintomas narrados pelo participante, diagnósticos médicos, cirurgias e/ou doenças, entre outras informações pertinentes ao estudo (APÊNDICE C). Também foi realizada a coleta de sangue em jejum de 12 horas e uma familiarização do participante à esteira. No segundo dia, todos participantes foram submetidos à avaliação antropométrica e ao teste ergométrico submáximo para avaliar o nível de CF. No último dia de avaliação foi realizado o protocolo de intervenção, o qual é composto pelo exercício físico agudo, as coletas de sangue e medidas de PA nos momentos pré e pós-teste. A PA foi aferida nos três dias de avaliações, sendo que, se os valores estivessem superiores a 160/95 o avaliador era orientado para não iniciar as avaliações físicas, como critério de segurança aos participantes, conforme recomenda as VII Diretrizes de Hipertensão Brasileira (SBH, 2016).

Figura 3 - Sequência de avaliações do estudo



TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido; PA - pressão arterial;

Fonte: elaborado pela autora (2019)

5.3 AVALIAÇÕES

Todos os participantes foram submetidos à avaliação hemodinâmica, antropométrica, bioquímica, genética e física.

5.3.1 Avaliação Hemodinâmica

5.3.1.1 Pressão Arterial

A PA dos participantes foi aferida em três momentos, por meio do método auscultatório após cinco minutos de repouso, em ambiente calmo, sentado com as costas apoiadas e as pernas descruzadas, conforme recomenda as VII Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (SBH, 2016).

O manguito foi adequado à circunferência do braço de cada participante, ajustado e posicionado com a parte compressiva centralizada sobre a artéria braquial e o braço deveria estar apoiado e posicionado na altura do coração. O avaliador insuflou o manguito rapidamente 30 mmHg acima da extensão do pulso radial e procedeu à deflação do manguito na velocidade aproximada de 2 mmHg/batimento. A pressão arterial sistólica foi determinada pela ausculta do primeiro som (fase I de Korotkoff) e a pressão arterial diastólica pelo desaparecimento dos sons (fase V de Korotkoff). Foi descartada a primeira aferição e realizadas duas medidas sequenciais nos dois membros, sendo registrada a de maior valor. Para a mensuração foi utilizado um aparelho esfigmomanômetro aneroide da marca WanMed® e um estetoscópio da marca Littmann® (SBH, 2016).

5.3.2 Avaliação Antropométrica

5.3.2.1 Índice de Massa Corporal

Para a classificação do estado nutricional e caracterização dos participantes foi realizado o índice de massa corporal (IMC), circunferência do abdômen e a razão cintura/quadril (RCQ). O IMC foi obtido pela divisão da massa corporal em quilogramas pela estatura em metros elevada ao quadrado, tendo como pontos de corte os valores propostos pela Organização Mundial da Saúde (2017), sendo considerado baixo peso, valor menor que 23 kg/m²; peso normal, valor entre 23 e 27,99 kg/m²; sobrepeso, valor entre 28 e 29,99 kg/m²; obesidade valor igual ou superior a 30 kg/m² (WHO, 2017). A RCQ foi calculada pela divisão da circunferência da cintura pela circunferência do quadril, sendo considerados portadores de obesidade central indivíduos do sexo feminino que

apresentaram RCQ maior que 0,85 e indivíduos do sexo masculino que apresentaram RCQ maior que 1,0 (GROOT et al., 1991). Para esta avaliação foi utilizada uma fita métrica do tipo inextensível Sanny® e uma balança antropométrica eletrônica digital Tanita® (modelo VM - 080) devidamente calibrada com capacidade para 150 kg e variação de 100g e um estadiômetro (SECA® – 206) com capacidade para 220 cm. Para a mensuração, os participantes permanecerão em pé, na posição ereta e membros superiores próximos ao corpo. Todos deveriam estar descalços e usando roupas leves.

5.3.3 Avaliação Bioquímica e Genética

5.3.3.1 Coleta de materiais biológicos

Foram coletadas amostras de sangue venoso através da veia antecubital por uma profissional especializada na área, utilizando materiais descartáveis. A profissional utilizou tubo ativador de coágulo com gel separador (5 ml tubo amarelo/soro) para a coleta referente ao perfil lipídico (colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, VLDL-colesterol, triglicérides), glicêmico, ácido úrico, cálcio, ureia, creatinina e proteínas totais; tubo de heparina de sódio (9 ml tubo verde/plasma) para nitrito (NO₂-) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); e tubo EDTA (4 ml tubo roxo/sangue total) para análise genética.

Os tubos foram centrifugados, exceto o tubo EDTA, para a separação do plasma e soro. O soro foi analisado imediatamente após a coleta, o plasma acondicionado em freezer -80 °C e o sangue total armazenado em freezer - 20°C.

5.3.3.2 Coleta sanguínea em jejum de 12 horas

Esta coleta ocorreu no primeiro dia de avaliação, a qual foi utilizada como caracterização da amostra e controle de possíveis fatores intervenientes. Os participantes foram orientados a permanecerem em jejum de 12 horas e evitarem no dia anterior à coleta, consumo de alimentos ricos em nitrato, tais como, beterraba, espinafre, rúcula, e entre outros, pois podem interferir nos resultados das análises. As amostras foram destinadas para a análise de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicérides, glicemia, ácido úrico, cálcio, creatinina, proteínas totais, por meio do analisador bioquímico A-15 (A-15, Biosystems S.A., Spain) utilizando-se kits comerciais específicos (Biosystems S.A.,Spain).

O plasma foi destinado para análise de NO₂- e TBARS. As concentrações plasmáticas de NO₂, metabólito estável do óxido nítrico, foram determinadas por reação de Griess (50 µl) em microplacas (96 poços) em aparelho leitor de ELISA. O total de NO₂- plasmático foi estimado a

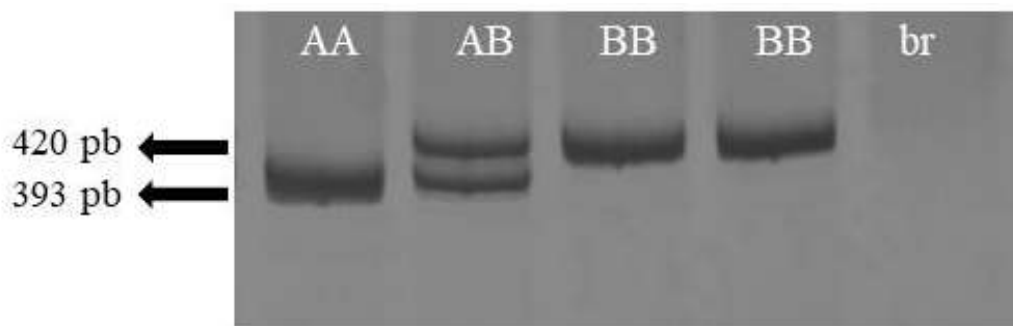
partir de uma curva padrão de absorvância em 592 nm e posteriormente, foi utilizada a quantificação de proteína total para correção dos cálculos das análises da dosagem de NO₂-, conforme descrito previamente (GRANGER et al., 1999). Para a análise de TBARS, foi utilizado o protocolo de Buege e Aust (1978), o qual permitiu a quantificação da presença de TBARS nas amostras. Foram adicionados 150 µL de dodecil sulfato de sódio, 300µL de ácido tricloroacético a 10% (P/V) e 500 µL de ácido tiobarbitúrico (0,67%) à 150µL de amostra de plasma para que ocorresse a reação. Essa mistura foi então agitada e incubada por 30 minutos a 100°C e, em seguida, foi resfriada em gelo por 5 minutos. Posteriormente, a mistura foi centrifugada durante 10 minutos a 4000 rpm e então, retirado 200 µL do sobrenadante, o qual foi adicionado em microplacas (96 poços) para posterior leitura da absorvância a 535 nm em espectrofotômetro (BUEGE; AUST, 1978). As TBARS são formadas como um subproduto da peroxidação lipídica. Uma vez que a EROS tem meia-vida extremamente curta e dessa forma, são difíceis de medir diretamente, o que pode ser mensurado são os vários subprodutos decorrentes de danos produzidos pelo estresse oxidativo, tais como as TBARS. Portanto esta análise objetivou uma possível avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo.

A amostra também foi destinada para análise genética dos participantes, o sangue total foi utilizado para extração do DNA de acordo com QIAamp DNA Mini Kit (número do catálogo 51154, Qiagen®, Alemanha). Todas as amostras foram analisadas em um espectrofotômetro (Nanodrop 1000, ThermoScientific®, Estados Unidos) com o objetivo de quantificar e verificar a qualidade do DNA extraído. Posteriormente, também foi utilizada para análise dos polimorfismos -T786C (rs2070744) e G894T (rs1799983) do gene da eNOS (números de catálogos C_15903863_10, C_3219460_10), a genotipagem foi realizada pelo sistema *Taqman*® em termociclador (Viia7, Applied Biosystems®, Estados Unidos) por reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, discriminando assim os diferentes genótipos para cada gene.

Já para o polimorfismo VNTR no Intron 4 (rs 61722009) foi utilizado os *primers* 5'- 5'-AGGCCCTATGGTAGTGCCTTG-3' (forward) e 5'-TCTCTTAGTGCTGTGGTCAC-3' (reverse) na concentração final de 20 µL que incluiu aproximadamente 50 a 300 ng/µL de DNA genômico, 5 µM de cada *primers*, 2 mM de dNTP, 50 mM de cloreto de magnésio, Tampão (10x) e 5 U/µL de Taq polimerase. As reações de PCR foram aquecidas a 94°C por 4 minutos de desnaturação inicial do DNA e foram submetidos a 35 ciclos a 94°C durante 30 segundos para a desnaturação, 63°C por 30 segundos para anelamento dos *primers* e 72°C durante 1 minuto de extensão do produto. Um passo final de extensão foi conduzido a 72°C durante 5 minutos. Foram gerados pelo PCR bandas/marcações de 393 e 420 bp, que correspondem aos alelos do polimorfismo 4aa, 4ab 4bb, respectivamente. Os produtos foram separados por eletroforese em géis de poliacrilamida a 12% e

posteriormente foram fixados (etanol 95% e ácido acético) e visualizados por coloração prata, conforme representado na figura 4.

Figura 4 - Genotipagem do Intron 4b/a em gel poliacrilamida a 12%



Fonte: imagem registrada por fotodocumentador (2019)

5.3.3.3 Coleta sanguínea em jejum de 2 horas

Esta coleta fez parte do protocolo de intervenção, a qual ocorreu no terceiro dia de avaliação sob um jejum de 2 horas. Assim como a primeira avaliação, o avaliador também orientou os participantes a evitarem desde o dia anterior à coleta, o consumo de alimentos ricos em nitrato, tais como: beterraba, espinafre, rúcula e entre outros, pois podem interferir nos resultados das análises.

Além disso, foi recomendado para que no dia da coleta, os participantes ingerissem alimentos leves e evitassem o consumo de café, chás e/ou outros alimentos que pudessem interferir nas análises. Foram coletadas amostras de sangue venoso nos momentos pré-exercício físico agudo e imediatamente após o exercício. Estas amostras foram destinadas para análise de concentração plasmática de NO_2^- , conforme descrito anteriormente (GRANGER et al., 1999). Também foi analisado TBARS (BUEGE; AUST, 1978) para avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo, sendo utilizado como controle de possíveis fatores intervenientes.

5.3.4 Avaliação Física

5.3.4.1 Teste Ergométrico Submáximo (determinação do $\text{VO}_{2\text{máx}}$)

Os participantes foram submetidos ao teste ergométrico submáximo realizado em uma esteira ergométrica, utilizando o protocolo de Balke adaptado para idosos (FARINATTI, 2008). Este é um protocolo o qual avaliou indiretamente o consumo máximo de oxigênio ($\text{VO}_{2\text{máx}}$), sendo possível estimar o $\text{VO}_{2\text{máx}}$ de cada participante por meio da fórmula $\text{VO}_{2\text{máx}} = (\text{vel} * 0,1) + (\text{vel} * \text{inclinação} * 1,8) + 3,5$ (WHALEY et al., 2006).

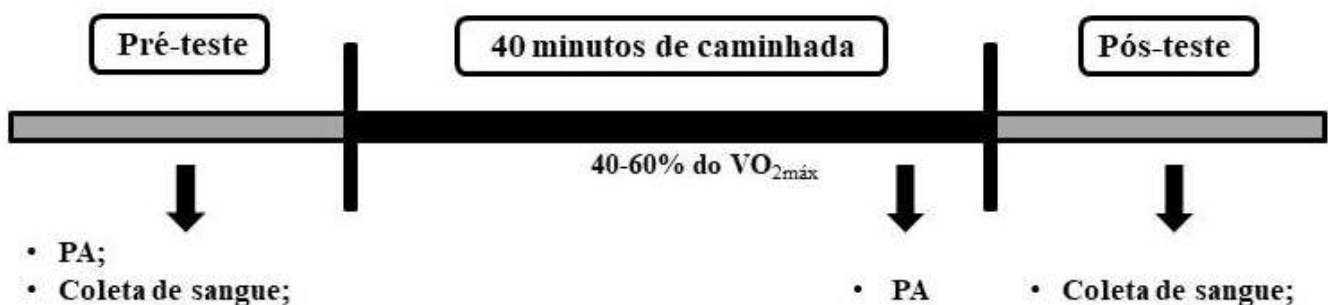
Este teste foi aplicado com o objetivo de avaliar o nível de CF dos participantes e auxiliar na prescrição da intensidade para realizar o protocolo de intervenção a partir do $VO_{2\text{máx}}$. A descrição completa do protocolo encontra-se no anexo I. Os participantes foram orientados a não realizar nenhuma prática de exercício físico pelo menos nas 48 horas que antecedem o teste e também, foi recomendado a evitarem o consumo de café, chás, chocolates e outros alimentos que pudessem estimular a FC e interferir no teste. Os participantes que faziam uso de terapia medicamentosa contínua foram orientados para que não interrompessem (SBH, 2016).

5.3.5 Protocolo de Intervenção

5.3.5.1 Exercício Físico Agudo

O protocolo de intervenção foi composto pela sessão de exercício físico agudo, coletas sanguíneas nos momentos pré e pós-teste e medidas de PA nos momentos pré e pós-teste (Figura 4), o qual cada participante realizou uma sessão de caminhada de 40 minutos em esteira ergométrica a uma intensidade entre 40-60% do $VO_{2\text{máx}}$ previamente determinada (APÊNDICE D). Os participantes foram orientados a não realizarem nenhuma prática de exercício físico pelo menos nas 48 horas que antecedem o teste e também, foi recomendado a evitarem o consumo de café, chás, chocolates e outros alimentos que pudessem estimular a FC e interferir no teste. O avaliador responsável também orientou para que os participantes não interrompessem o uso de medicamentos contínuos no dia do teste (SBH, 2016). A intensidade da caminhada foi monitorada por um frequencímetro da marca Polar/modelo RS800.

Figura 5 - Sequência de avaliações durante o protocolo de intervenção



PA - pressão arterial;

Fonte: elaborado pela autora (2019)

5.3.6 Análise Estatística

A distribuição dos genótipos para cada polimorfismo foi avaliada pelo desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg utilizando o teste do Qui-Quadrado (χ^2) (StatView, Cary, NC, EUA). Os dados foram relatados em média \pm DP e com nível de significância de $p < 0,05$. A distribuição dos dados foi considerada normal (paramétrico) pelo teste de Shapiro-Wilk, e, sendo realizado, portanto, uma análise de variância de duas vias para medidas repetidas com pós-teste de SIDAK, tendo como variáveis independentes o nível de CF e a intervenção (sessão de exercício físico), e, como variáveis dependentes o NO₂-, TBARS e PA. O programa estatístico utilizado para essas análises foi o SPSS versão 20.0. Posteriormente, a influência das variáveis de caracterização e dos genótipos sobre as respostas de NO₂- e PA foi avaliada por análises de regressão linear multivariada utilizando o software JMP 13.0.0 (SAS Institute). As variáveis de importância clínica, laboratorial, antropométrica e genéticas foram incluídas como variáveis independentes, enquanto o NO₂- e PA como variáveis dependentes no modelo de regressão linear multivariada.

6 RESULTADOS

A tabela 1 apresenta as características clínicas, laboratoriais e físicas dos participantes de acordo com o nível de CF. Inicialmente, o nível de CF dos participantes, mensurado por meio do $VO_{2máx}$, sendo classificado segundo os critérios de Cooper (1982). E, em seguida, os participantes foram divididos em dois grupos: o grupo (G1) representando os que possuem nível de CF bom e o grupo 2 (G2), os que foram classificados com nível de CF fraco. Apesar do G1 apresentar uma prevalência no número de participantes, a caracterização da amostra demonstra ter similaridade entre as variáveis analisadas, apresentando diferença significativa apenas para o $VO_{2máx}$ e IMC. Pode ser observado também em ambos os grupos, uma predominância de participantes do sexo feminino, normotensos e não diabéticos.

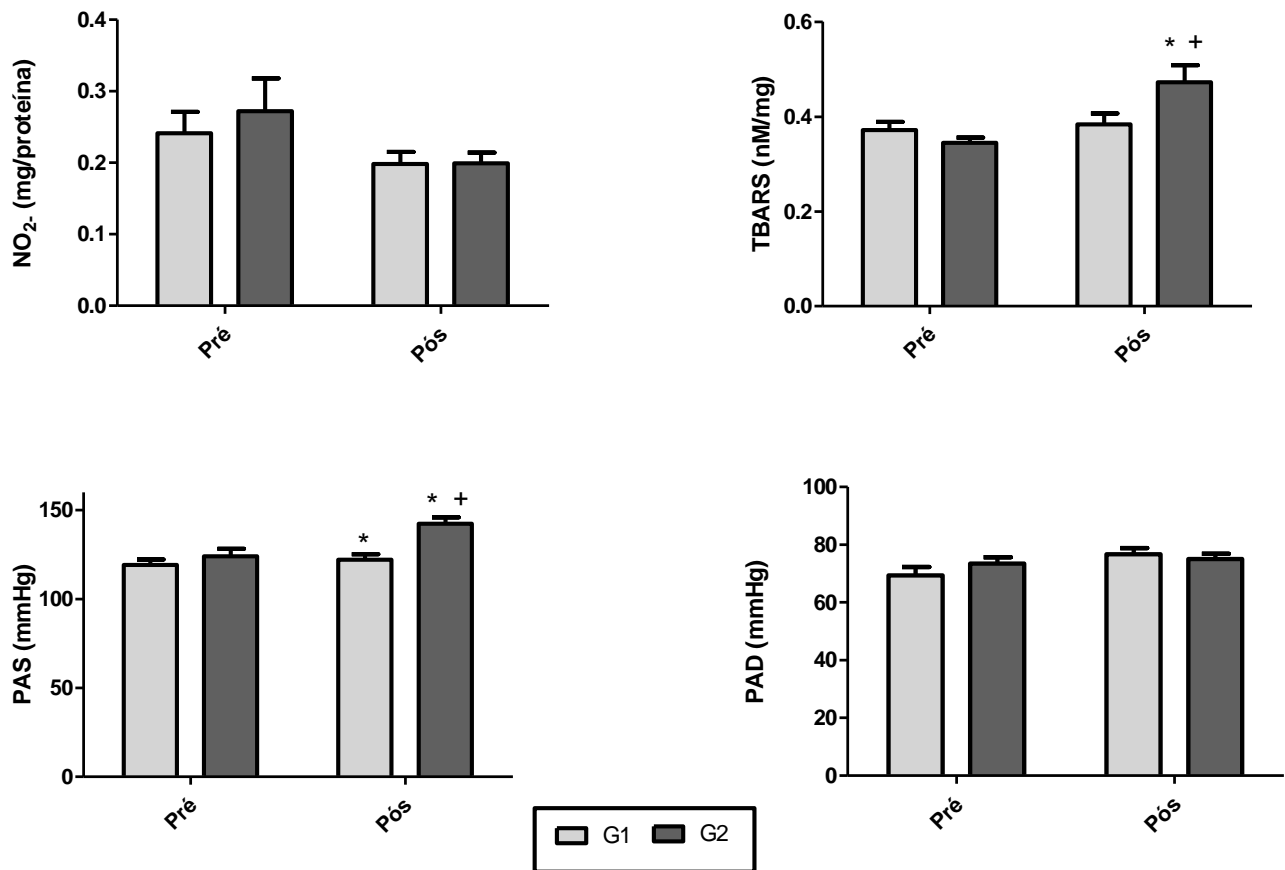
Os dados apresentados da figura 6 demonstram as respostas de NO_2 , TBARS, PAS e PAD imediatamente após a sessão de exercício físico em idosos com nível de CF bom e fraco. Foi possível observar que não houve diferença significativa para os valores de NO_2 em nenhum momento para ambos os grupos (G1 pré $0,241 \pm 0,030$ e pós $0,198 \pm 0,017$; G2 pré $0,272 \pm 0,046$ e pós $0,199 \pm 0,015$). Já os valores de TBARS apresentaram diferenças significativas pós-exercício físico para o G2 (G1 pré $0,372 \pm 0,017$ e pós $0,384 \pm 0,023$; G2 pré $0,345 \pm 0,011$ e pós $0,473 \pm 0,036$). Ainda, os grupos apresentaram diferença entre eles no momento pós-exercício ($p=0,026$) e também uma interação estatisticamente significativa ($p=0,009$). A PAS dos idosos apresentaram diferenças significativas no momento pós-exercício físico tanto para o G1 quanto para o G2 (G1 pré $119,21 \pm 3,16$ e pós $122,26 \pm 3,02$; G2 pré $124,00 \pm 4,29$ e pós $142,47 \pm 3,66$). Os grupos apresentaram diferenças significativas entre eles no momento pós-exercício ($p=0,038$) e uma interação significativa ($p=0,026$). Para PAD, não houve diferença significativa em nenhum momento para os dois grupos (G1 pré $69,36 \pm 2,91$ e pós $76,73 \pm 2,06$; G2 pré $73,47 \pm 2,23$ e pós $75,05 \pm 1,84$).

Tabela 1 - Características dos participantes de acordo com o nível de condicionamento físico

Variáveis	G1 (n = 115)	G2 (n = 30)	p-value
Características			
Masculino/Feminino	32/83	10/20	-
Hipertenso/Normotenso	53/62	9/21	-
Diabético/ Não diabético	28/87	10/20	-
Pressão Arterial			
PAS (mmHg)	122,66 ± 10,85	123,03 ± 9,05	0,865
PAD (mmHg)	73,68 ± 10,97	75,78 ± 6,28	0,318
Dados Antropométricos			
IMC (kg/m ²)	28,20 ± 13,73	26,52 ± 3,78	0,041*
RCQ	0,87 ± 0,08	0,87 ± 0,06	0,684
Abdômen (cm)	95,34 ± 9,44	97,00 ± 12,47	0,569
Capacidade Física			
VO _{2máx} (ml/kg/min)	33,67 ± 7,00	21,93 ± 4,46	0,001*
Bioquímica Sanguínea			
Colesterol Total (mg/dL)	206,01 ± 47,00	199,55 ± 62,50	0,541
HDL (mg/dL)	47,76 ± 17,09	55,52 ± 50,91	0,179
LDL (mg/dL)	130,83 ± 44,89	123,77 ± 59,81	0,484
VLDL (mg/dL)	26,94 ± 11,84	27,11 ± 12,33	0,945
Triglicérides (mg/dL)	134,06 ± 59,56	134,06 ± 59,56	0,897
Glicose (mg/dL)	104,73 ± 22,99	105,31 ± 27,45	0,908
Creatinina (mg/dL)	0,66 ± 0,17	0,91 ± 1,15	0,055
Ureia (mg/dL)	33,19 ± 0,66	34,37 ± 0,91	0,598
Cálcio (mg/dL)	9,10 ± 0,66	9,25 ± 0,70	0,313
Ácido úrico (mg/dL)	4,65 ± 1,34	5,02 ± 1,42	0,229
Proteína Total (mg/dL)	6,78 ± 0,47	6,90 ± 0,62	0,305
NO ₂ - (mg/proteína)	0,19 ± 0,10	0,20 ± 0,10	0,678
TBARS (nM/mg)	0,51 ± 0,21	0,50 ± 0,21	0,887

G1: nível de condicionamento físico bom; G2: nível de condicionamento físico fraco; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; IMC: índice de massa corporal; RCQ: relação cintura/quadril; VO_{2máx}: consumo máximo de oxigênio; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; NO₂: nitrito; TBARS: ácido tiobarbitúrico; *p<0.05.

Figura 6 - Efeito agudo do exercício físico na concentração de NO₂⁻, valores de PAS, PAD e TBARS em idosos com diferentes níveis de condicionamento físico



* $p < 0,05$ pré vs pós; + $p < 0,05$ entre grupos no momento pós; NO₂⁻: nitrito; TBARS: ácido tiobarbitúrico PAS: pressão arterial sistólica; pressão arterial diastólica; G1: grupo com bom nível de condicionamento físico; G2: grupo com fraco nível de condicionamento físico;

A tabela 2 apresenta a distribuição dos genótipos e alelos dos polimorfismos da eNOS referentes aos idosos com nível de CF bom e fraco. Para o polimorfismo -786T>C foi observada maior frequência do alelo T para o grupo G1 (52%) e do alelo C (57%) para o G2. Em relação aos genótipos, o heterozigoto (TC) foi mais encontrado em ambos os grupos, tendo uma frequência de 54% para o G1 e 53% para o G2. Para Intron 4b/a, as maiores frequências foram observadas para o alelo B, sendo 84% para o G1 e 85% para o G2 e, o genótipo homozigoto ancestral (BB) foi mais frequente tanto para o G1 (69%), quanto para o G2 (73%). Ainda, em relação ao polimorfismo 894G>T, o alelo G foi mais encontrado em ambos os grupos, sendo 68% frequente para G1 e 65% para o G2, e quanto ao genótipo, o homozigoto ancestral (GG) foi mais frequente no G1 (46%), enquanto o heterozigoto (GT) obteve maior frequência no grupo G2 (57%).

Tabela 2 - Perfil genético dos participantes de acordo com o nível de condicionamento físico

Genótipos e Alelos	G1 (n = 115)	G2 (n = 30)
Características		
-786T>C	% (n)	% (n)
TT	0,28 (32)	0,16 (5)
TC	0,47 (54)	0,53 (16)
CC	0,25 (29)	0,30 (9)
T	0,52 (118)	0,43 (26)
C	0,48 (112)	0,57 (34)
INTRON 4b/a		
bb	0,69 (80)	0,73 (22)
ba	0,28 (32)	0,23 (7)
aa	0,3 (3)	0,3 (1)
b	0,84 (192)	0,85 (51)
a	0,16 (38)	0,15 (7)
894G>T		
GG	0,46 (53)	0,37 (11)
GT	0,43 (50)	0,57 (17)
TT	0,11 (12)	0,6 (2)
G	0,68 (156)	0,65 (39)
T	0,32 (74)	0,35 (21)

G1: nível de condicionamento físico bom; G2: nível de condicionamento físico fraco

As influências dos polimorfismos do gene da eNOS para as respostas agudas de NO₂-, PAS e PAD diante à sessão de exercício físico estão apresentadas na tabela 3. Os polimorfismos no Intron 4 e 894G>T não apresentaram associações significativas para nenhum genótipo. Já o polimorfismo -786T>C, o genótipo homocigoto (TT) apresentou associação negativa sobre os valores de PAS e PAD, enquanto o heterocigoto (TC) apresentou associação positiva para PAD. Foi possível observar que algumas variáveis independentes apresentaram associações negativas para PAS, como os idosos diabéticos e o TBARS para as respostas de NO₂-. Além disso, o VO_{2máx} apresentou associação

negativa para a PAS e os níveis de colesterol total e HDL apresentaram associação positiva para os valores de PAD.

Tabela 3 - Associação de variáveis de caracterização e genótipos da eNOS no modelo de herança aditiva sobre os valores de NO₂-, PAS e PAD após exercício físico agudo

Modelo (n = 145)	Aditivo NO ₂ -		Aditivo PAS		Aditivo PAD		
	R ² = 0,30 RMSE = 0,13		R ² = 0,23 RMSE = 17,16		R ² = 0,22 RMSE = 8,53		
	β	P	β	P	β	P	
Etnia/ branco	<0,01	0,657	0,960	0,555	0,600	0,443	
Gênero/Homem	-0,01	0,415	1,010	0,574	-0,100	0,909	
Hipertenso	-0,004	0,698	1,830	0,191	-0,800	0,246	
Diabético	-0,005	0,699	-0,940	0,604	-1,720	0,051*	
IMC	-0,012	0,576	-0,210	0,579	-0,550	0,153	
RCQ	0,300	0,076	10,25	0,646	20,62	0,065	
VO ₂ máx	-0,001	0,292	-0,140	0,037*	-0,010	0,889	
TBARS	-0,170	0,001*	14,13	0,019*	0,980	0,326	
Colesterol Total	-0,001	0,200	<0,01	0,745	0,030	0,031*	
HDL	0,001	0,144	-0,004	0,912	-0,040	0,029*	
LDL	-0,01	0,063	-0,003	0,809	0,010	0,095	
VLDL	0,060	0,618	5,800	0,739	-10,07	0,246	
Triglicérides	-0,010	0,630	-1,170	0,737	1,99	0,252	
Glicose	<0,01	0,339	0,020	0,761	0,05	0,112	
NO ₂	-	-	-14,53	0,106	-1,10	0,271	
eNOS							
-786T>C	TT	-0,010	0,331	-4,94	0,012*	-0,97	0,035*
	TC	<0,01	0,881	2,07	0,243	1,82	0,039*
	CC	<0,01	0,422	-2,86	0,163	-0,23	0,818
			P Global = 0,601		P Global = 0,043*		P Global = 0,047*
Intron 4 b/a	BB	0,010	0,639	-3,02	0,397	1,50	0,323
	BA	0,020	0,369	1,20	0,732	2,17	0,145
	AA	-0,030	0,456	1,82	0,778	-3,68	0,167
			P Global = 0,656		P Global = 0,326		P Global = 0,338
894G>T	GG	<0,01	0,686	-1,31	0,532	-1,58	0,117
	GT	-0,050	0,997	0,30	0,884	0,02	0,981
	TT	-0,060	0,779	1,00	0,737	1,56	0,281
			P Global = 0,921		P Global = 0,813		P Global = 0,292

NO₂: Nitrito; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; R₂: parte da variabilidade explicada pelo modelo; RMSE (Root Mean Square Error): erro quadrático médio; β: parâmetro estimado; *p<0,05;

7 DISCUSSÃO

A proposta do presente estudo foi analisar o efeito agudo do exercício físico na concentração de NO₂-, nos valores de PAS e PAD em idosos com diferentes níveis de CF e, além disso, investigar se os polimorfismos do gene da eNOS podem influenciar nessas respostas. De acordo com os resultados, foi possível observar que os idosos com bons níveis de CF apresentaram valores de PAS e TBARS mais baixos imediatamente após sessão de exercício físico quando comparados aos idosos com nível de CF fraco. Além disso, o genótipo ancestral do polimorfismo 786T>C foi associado com valores mais baixos tanto para PAS quanto para PAD, enquanto o perfil heterozigoto demonstrou ter influência para resposta mais elevada de PAD.

Os dados da tabela 1 apresentaram as características dos participantes referentes às variáveis hemodinâmicas, antropométricas, físicas e bioquímicas e, também, suas comparações entre os grupos com nível de CF bom e nível de CF fraco. A amostra foi considerada homogênea para a maioria das variáveis, apresentando diferença significativa entre os grupos apenas para o VO_{2máx}, característica coerente com a proposta que o estudo visa investigar, e, embora tenha sido uma diferença discreta, o G1 apresentou valor de IMC mais elevado comparado ao G2, porém mesmo eles apresentando diferenças nos valores de IMC, ambos os grupos tiveram a mesma classificação, segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017). Além disso, após a análise para verificar a influência das variáveis de caracterização sobre as respostas de NO₂-, PAS e PAD, o IMC não apresentou associação significativa, evitando sua influência nos resultados gerais.

Foi notório o maior número de idosos no G1, o que é justificável esta prevalência de idosos com melhor CF devido à própria seleção da intervenção utilizada no presente estudo. Visto que os idosos foram submetidos a uma caminhada de 40 minutos em uma intensidade considerada moderada, os participantes com níveis de CF fraco, em grande parte, apresentaram alguma intercorrência e foram excluídos da pesquisa por não conseguirem completar o teste. Essa ocorrência também se aplica aos participantes hipertensos e diabéticos, o que pode argumentar também a predominância de idosos normotensos e não diabéticos em ambos os grupos.

Interessante notar também a prevalência das mulheres tanto no G1 quanto no G2. Alguns estudos relataram que as mulheres aderem melhor a projetos sociais e supervisionados de exercício físico relacionados à promoção de saúde quando comparados aos homens, o que pode esclarecer a maior aderência da participação de mulheres em pesquisas da área de saúde (CASTRO et al., 2010; TRAPÉ et al., 2013; VASCONCELOS-RAPOSO et al., 2009).

Foi possível identificar que, no geral, os dados demonstram similaridade entre os participantes de ambos os grupos, a qual permite uma boa caracterização da amostra, podendo fortalecer os resultados das análises do presente estudo.

A figura 6 demonstrou as respostas de NO₂-, TBARS, PAS e PAD no momento pré e imediatamente após uma sessão de exercício físico em idosos com diferentes níveis de CF. Notou-se que não houve diferença significativa nas concentrações plasmáticas de NO₂- com o estímulo do exercício físico em sessão única, resultado que contrasta às evidências prévias sobre o efeito crônico do exercício físico sobre as respostas de NO, como é o caso de Katarzyna e colaboradores (2017), o qual analisou o efeito de 5 meses de atividade aeróbia (dança), a uma intensidade similar a do presente estudo, em 19 mulheres com idade entre 60 e 82 anos, observando um aumento significativo (7,3%) na concentração total de nitrato/nitrito (FILAR-MIERZWA et al., 2017).

Entretanto, Orsano e colaboradores (2018), investigaram o efeito agudo de dois tipos de treinamento resistido em 15 idosas hipertensas ($67,1 \pm 6,9$ anos). Neste estudo, as amostras de sangue foram coletadas no momento pré e aos 3, 15 e 30 minutos após a sessão de exercício, e, os resultados revelaram que ambos os exercícios induziram uma maior biodisponibilidade de NO apenas após 30 minutos da sessão, enquanto o estresse oxidativo (TBARS) aumentou imediatamente após o exercício físico e retornou aos valores basais em até 30-45 minutos após o exercício em ambas as sessões de treinamento. Esses achados, de certa forma, corroboram com os resultados do presente estudo, visto que a coleta de sangue foi realizada imediatamente após a sessão de exercício, não encontrando diferenças para NO₂- e aumento nos valores de TBARS em ambos os grupos, embora apenas o G2 obteve aumento significativo.

Uma hipótese relevante sobre esse comportamento do NO₂- foi o aumento do estresse oxidativo induzido pelo efeito agudo do exercício físico. Segundo a literatura, as substâncias pró-oxidantes podem reagir com o NO e resultar a formação de peroxinitrito, levando à oxidação da BH₄, um cofator crítico para a eNOS, perpetuando seu desacoplamento. Dessa forma, o aminoácido L-arginina (substrato da enzima) na falta do cofator BH₄, em algumas condições, pode produzir EROS em maior quantidade ao invés de NO₂-, levando a um ciclo vicioso de produção de EROS, reduzindo a biodisponibilidade plasmática de NO₂-. (KUZKAYA et al., 2003; VÁSQUEZ-VIVAR et al., 1998).

Baseando-se nestas evidências, pode-se sugerir que as concentrações de NO₂- possa ter um comportamento tardio em relação ao estresse oxidativo provocado pelo exercício físico agudo, porém não foi avaliado por este estudo.

Interessante observar também que houve diferença entre o G1 e G2 nos valores de TBARS no momento pós-exercício, ou seja, imediatamente após o exercício físico parece que o estresse oxidativo assume um caráter de maior relevância quando comparado às concentrações de NO₂- especialmente, em idosos com baixos níveis de CF, o que está coerente com evidências prévias, as quais mostram que idosos com nível de CF mais alto representam menor exposição ao estresse

oxidativo devido ao aumento da capacidade anti-oxidante. Esse resultado indica que bom nível de CF pode atuar como um efeito protetor contra o dano oxidativo (JACOMINI et al., 2016).

Foi possível notar que tais resultados tiveram como desfecho um melhor comportamento da PA no grupo G1 quando comparado ao grupo G2. Pode-se observar que apesar de ambos os grupos terem aumentado os valores da PAS no momento pós-exercício físico, fato que já era uma resposta esperada frente aos ajustes do sistema cardiovascular ao esforço físico (SBH, 2016), o G2 teve um comportamento da PAS mais elevado quando comparado ao G1, o que condiz com os achados da literatura sobre a relação CF, NO e estresse oxidativo. De acordo com as pesquisas, a prática regular de exercício físico contribui para melhor função endotelial devido ao aumento do fluxo sanguíneo, estímulo para produção de NO e de substâncias antioxidantes, as quais neutralizam a reação entre EROS e NO, aumentando a biodisponibilidade do NO. Juntos, conseqüentemente, esses resultados assumem uma importante função no controle da PA devido, principalmente, ao aumento do mecanismo de vasodilatação (GENG et al., 2011; ZAGO, A.S.; KOKUBUN; REIS SILVEIRA, 2010).

Em adição, sugere-se que outros mecanismos, não investigados no presente trabalho, podem também estar influenciando esta resposta. Pesquisadores relataram que tanto o comando central quanto o reflexo pressor do exercício são importantes para redefinição do barorreflexo arterial e aos ajustes cardiovasculares necessários para corresponder à oferta sistêmica de oxigênio com a demanda metabólica, desta forma, as pessoas com baixo $VO_{2máx}$ apresentam menor capacidade e, conseqüentemente, respostas exacerbadas frente ao exercício (FU; LEVINE, 2013). Ainda, Hieda e colaboradores avaliaram 53 pessoas com idade entre 52 e 54 anos (grupo controle: n= 25; grupo de exercícios: n=28) após 2 anos de intervenção e, observaram um aumento significativo na sensibilidade barorreflexa arterial-cardíaca apenas no grupo exercício, concluindo que pessoas treinadas possuem melhor controle das variáveis cardiovasculares (HIEDA et al., 2019).

Com base nos resultados do presente estudo e da literatura citada é possível observar que, imediatamente após o exercício físico, o estresse oxidativo exerça maior influência no controle do sistema cardiovascular quando comparado às concentrações de NO_2 , sugerindo que as concentrações de NO_2 possa ter um efeito tardio. Por outro lado, a manutenção de bons níveis de CF parece gerar um efeito protetor, uma vez que os idosos com melhor nível de CF apresentaram menor elevação de PA e de estresse oxidativo após a sessão de exercício físico.

As características genéticas dos polimorfismos do gene da eNOS foram mostradas na tabela 3, sendo possível identificar o perfil genético mais frequente para cada grupo. Observou-se que ambos os grupos apresentaram características genéticas semelhantes, obtendo uma maior frequência de genótipos heterozigotos para o polimorfismo -786T>C e maior frequência de genótipos homozigotos ancestrais para o polimorfismo no intron 4b/a, havendo apenas uma exceção para o

polimorfismo 894G>T, o qual o genótipo homozigoto ancestral foi mais frequente no G1 e o genótipo heterozigoto foi mais frequente no G2.

De acordo com a literatura, os genótipos predominantes em ambos os grupos para o -786T>C e no G2 para o polimorfismo 894G>T, são associados ao maior risco de desenvolver HA. Segundo os resultados gerais de Xie e colaboradores, através de uma meta-análise envolvendo 63.258 indivíduos, totalizando 95 estudos de caso-controle (29.308 casos de HA e 33.950 casos controles), foi demonstrado que o genótipo heterozigoto tanto para o -786T>C quanto para o 894G>T apresentou maior suscetibilidade em desenvolver HA (XIE et al., 2017). Já para o polimorfismo no intron 4, os grupos não apresentaram maior frequência do genótipo considerado de maior risco. De Marco e colaboradores observaram menores concentrações de NO₂ e maior suscetibilidade às doenças cardiovasculares para os indivíduos com genótipo 4a/a (DE MARCO et al., 2012).

Partindo desses pressupostos, embora o perfil genético tenha sido bastante semelhante e a predominância tenha sido de participantes normotensos em ambos os grupos, o G2 apresentou uma resposta distinta principalmente em relação a PA, obtendo maiores valores de PAS diante do exercício físico. Uma justificativa plausível foi encontrada no estudo de Kimura (2003), o qual após avaliar 832 adultos com idade entre 50 e 60 anos, observou que o nível de atividade física teve associação inversa com os valores de PA para as pessoas com genótipos de risco e, eventualmente, este polimorfismo foi significativamente associado com a prevalência de HA apenas para as pessoas que estavam no tercil mais baixo de atividade física, concluindo assim que a manutenção de bons níveis de CF pode contrapor a influência dos fatores genéticos, o que demonstra a importância da interação entre fatores genéticos e ambientais para reduzir o risco da doença (KIMURA et al., 2003).

O presente estudo também verificou a influência que os genótipos podem ter exercido sobre o NO₂, PAS e PAD, observando uma associação do polimorfismo -786T>C, o qual obteve menores valores de PAS e PAD associado ao genótipo homozigoto e maior valor de PAD para o heterozigoto. Esses resultados estão de acordo com estudo de Spoton e colaboradores, o qual investigaram 55 mulheres após 6 meses de treinamento, observando que mulheres com genótipo TT foram mais responsivas na redução da PA quando comparadas àquelas com genótipo TC e CC (SPONTON et al., 2010). Entretanto, sugere-se que esta associação não tenha afetado os resultados gerais, uma vez que ambos os grupos não tiveram maior frequência desse genótipo.

Os resultados do presente estudo também contrastam com os principais achados de Silva e colaboradores (2018), o qual após avaliar 424 idosos com idade entre 60 e 70 anos, observaram à associação do intron 4b/a com os valores de PAD, ainda, observaram uma associação do nível de CF com valores de NO₂, e este, uma associação com a PAS. Entretanto o presente estudo avaliou o comportamento dessas variáveis diante da resposta aguda do exercício físico, enquanto o estudo de Silva verificou as variáveis no momento repouso, o que pode justificar essa divergência entre os resultados, tornando a proposta do presente estudo inovadora.

Importante notar que o nível de CF apresentou influência sobre menores valores de PAS. Esses achados corroboram com estudos prévios, os quais observaram os benefícios de bons níveis de CF e do treinamento sobre o controle da PA (DA SILVA et al., 2018; TRAPÉ et al., 2017).

Contudo, embora a literatura aponte que os polimorfismos do gene da eNOS são associados a menor produção de NO, os resultados apresentados neste estudo não mostraram influência do perfil genético sobre a resposta de NO₂ após sessão de exercício físico, podendo sugerir que o perfil genético não influencia o NO₂ de forma aguda quando este é avaliado imediatamente após a realização do exercício físico. Por outro lado, vale ressaltar a influência do TBARS sobre as menores respostas para NO₂, e, além disso, o TBARS demonstrou influenciar um comportamento mais elevado da PA. Esses achados podem fortalecer as hipóteses supracitadas, as quais sugerem uma resposta tardia do NO₂ com relação ao aumento imediato do TBARS induzido pelo exercício físico agudo, enquanto este acarretou maior valor de PA para o grupo G2, especialmente para os idosos com nível de CF fraco, o que reforça a manutenção de bons níveis de CF como um efeito protetor para o sistema cardiovascular.

Dessa forma, com base nesses resultados foi possível observar que a influência de bons níveis de CF pode compensar os fatores genéticos e do estresse oxidativo sobre o comportamento da PA pós-sessão aguda de exercício físico.

8 LIMITAÇÃO DO ESTUDO

É de notório saber científico que um método direto para mensurar o $VO_{2máx}$ dos participantes é considerado mais eficiente quando comparado a um protocolo indireto, devido aos vieses que este pode apresentar. Visto que o presente trabalho utilizou o protocolo de Balke para estimar o $VO_{2máx}$, é importante ressaltar que inicialmente um estudo piloto foi realizado por meio do método direto utilizando o aparelho K4, porém os idosos não se adaptaram ao uso da máscara facial e houve intercorrência, sendo necessário a interrupção do teste. Desta forma, após revisar a literatura sobre uma avaliação validada e que buscasse contemplar o atual objetivo, o protocolo de Balke modificado para idosos foi considerado o mais efetivo. Considerando que este método avalia por meio da FC, o pesquisador responsável teve como critério de inclusão e exclusão alguns fatores os quais pudessem interferir nessas respostas, assim sendo possível atenuar possíveis vieses que o protocolo pudesse apresentar.

A relação do exercício físico agudo com polimorfismos ainda se encontra escassa na literatura, dificultando o embasamento dos presentes resultados com a literatura, com isto, reforça a proposta inovadora deste estudo e também, a necessidade de novos estudos.

Além disso, outra limitação do estudo foi à avaliação sanguínea apenas imediatamente após o exercício físico agudo, uma vez que o NO_2^- pode apresentar uma resposta tardia, sendo interessante avaliar, em futuros estudos, o NO_2^- após a realização do exercício físico. Entretanto, o presente trabalho não teve como objetivo investigar o efeito hipotensor do exercício físico, o que torna esta hipótese sugestiva para futuras pesquisas.

9 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, foi possível concluir que não houve diferença nas concentrações plasmáticas de NO₂ imediatamente após sessão aguda de exercício físico em idosos com diferentes níveis de CF. Entretanto, os idosos com bons níveis de CF apresentaram valores de PAS e TBARS mais baixos imediatamente após a sessão de exercício físico quando comparados aos idosos com nível de CF fraco. Além disso, o polimorfismo -786T>C demonstrou apresentar influência para a PA frente a sessão aguda de exercício físico, sendo as pessoas com genótipos homozigoto (TT) apresentando menores valores de PA imediatamente após o exercício físico, enquanto as pessoas com genótipo heterozigoto (TC) responderam com valores mais elevados para PAD.

Ademais, foi possível concluir que o CF apresentou influência sobre menores valores de PA e, valores de TBARS mais elevado influenciou de forma negativa a resposta de NO₂ pós-exercício físico. Além disso, maior valor de TBARS também apresentou influência para resposta de PA mais elevada.

Essas evidências podem contribuir para uma melhor compreensão das respostas decorrentes do exercício físico agudo e também aprimorar a compreensão referente às adaptações crônicas e, ainda, destaca a importância de adotar um estilo de vida ativo, visto que os idosos com bons níveis de CF tiveram menores valores de PA e estresse oxidativo imediatamente após a sessão de exercício físico, concluindo que a manutenção de bons níveis de CF pode exercer um efeito protetor para riscos cardiovasculares.

REFERÊNCIAS

- ARNDT, H. et al. Mediators of leukocyte adhesion in rat mesenteric venules elicited by inhibition of nitric oxide synthesis. **Gastroenterology**, v. 105, p. 675-80, 1993.
- BOT, S. D. M.; HOLLANDER, A. P. The relationship between heart rate and oxygen uptake during non-steady state exercise. **Ergonomics**, v. 43, n. 10, p. 1578-1592, 2000/10/01 2000.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: FLEISCHER, S. e PACKER, L. (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, v.52, 1978. p.302-310. ISBN 0076-6879.
- CAMPO, S. et al. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) gene mutations screening in a sample of Mediterranean population. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 578, n. 1, p. 143-148, 2005/10/15/ 2005.
- CASAS, J. P. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Genotype and Ischemic Heart Disease. **Circulation**, v. 109, n. 11, p. 1359-1365, 2004.
- CASTRO, M. S. et al. Motivos de permanência dos praticantes nos programas de exercícios físicos oferecidos pelo Serviço Social do Comércio Brasil. **Motricidade**, v. 6, p. 23-33, 2010.
- CHALMERS, J. et al. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 21, n. 5-6, p. 1009-1060, 1999/01/01 1999.
- CIPULLO, J. P. et al. Prevalência e fatores de risco para hipertensão em uma população urbana brasileira. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, p. 519-526, 2010.
- CLAUDIA B. CESARINO, C. B. et al. Prevalência e Fatores Sociodemográficos em Hipertensos de São José do Rio Preto - SP. **Arq Bras Cardiol**, v. 91, n. 1, p. 31-35, 2008.
- COOKE, G. E.; DOSHI, A.; BINKLEY, P. F. Endothelial nitric oxide synthase gene: prospects for treatment of heart disease. **Pharmacogenomics**, v. 8, n. 12, p. 1723-1734, 2007.
- DA SILVA, R. F. et al. Influence of training status and eNOS haplotypes on plasma nitrite concentrations in normotensive older adults: a hypothesis-generating study. **Aging Clin Exp Res**, v. 26, n. 6, p. 591-8, Dec 2014.
- DA SILVA, R. F. et al. Association of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene polymorphisms and physical fitness levels with plasma nitrite concentrations and arterial blood pressure values in older adults. **PLoS One**, v. 13, n. 10, p. e0206254, 2018.
- DE MARCO, K. C. et al. Intron 4 polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene is associated with decreased NO production in a mercury-exposed population. **Science of The Total Environment**, v. 414, p. 708-712, 2012/01/01/ 2012.
- DOMINICZAK, A. F.; BOHR, D. F. Nitric oxide and its putative role in hypertension. **Hypertension**, v. 25, n. 6, p. 1202-1211, 1995.
- EGUCHI, A. et al. TRF1 is a critical trans-acting factor required for de novo telomere formation in human cells. **Human Molecular Genetics**, v. 9, n. 18, p. 2639-2650, 2000.

FARINATTI, P. D. T. V. **Envelhecimento, promoção da saúde e exercício**. Barueri: Manole, 2008.

FARREL, A. J.; BLAKE, D. R. Nitric oxide (review). **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 55, p. 7-20, 1996.

FILAR-MIERZWA, K. et al. Effects of different rehabilitation models on erythrocyte deformability and nitrite plus nitrate as end-products of nitric oxide levels in elderly women. **Geriatrics & Gerontology International**, v. 17, n. 12, p. 2479-2484, 2017.

FU, Q.; LEVINE, B. D. Chapter 13 - Exercise and the autonomic nervous system. In: BUIJS, R. M. e SWAAB, D. F. (Ed.). **Handbook of Clinical Neurology**: Elsevier, v.117, 2013. p.147-160. ISBN 0072-9752.

GENG, T. et al. PGC-1 β ; Promotes Nitric Oxide Antioxidant Defenses and Inhibits FOXO Signaling Against Cardiac Cachexia in Mice. **The American Journal of Pathology**, v. 178, n. 4, p. 1738-1748, 2011.

GONÇALVES, L. M. Genetic markers of hypertension: what will the future bring? **RevPortCardiol**, v. 21, n. 1, p. 39-43, 2002.

GRANGER, J. P. et al. Role of nitric oxide in modulating renal function and arterial pressure during chronic aldosterone excess. **Am J Physiol**, v. 276, n. 1 Pt 2, p. R197-202, Jan 1999.

HIEDA, M. et al. The impact of 2 years of high-intensity exercise training on a model of integrated cardiovascular regulation. **The Journal of Physiology**, v. 597, n. 2, p. 419-429, 2019.

HIGASHI, Y. et al. Daily aerobic exercise improves reactive hyperemia in patients with essential hypertension. **Hypertension**, v. 33, n. 1 Pt 2, p. 591-7, Jan 1999.

JACOMINI, A. M. et al. Training Status as a Marker of the Relationship between Nitric Oxide, Oxidative Stress, and Blood Pressure in Older Adult Women. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2015, p. 8262383, 2016.

KAPRIO, J. et al. Effects of polymorphisms in apolipoproteins E, A-IV, and H on quantitative traits related to risk for cardiovascular disease. **Arteriosclerosis and Thrombosis: A Journal of Vascular Biology**, v. 11, n. 5, p. 1330-1348, 1991.

KIMURA, T. et al. NOS3 genotype-dependent correlation between blood pressure and physical activity. **Hypertension**, v. 41, n. 2, p. 355-60, 2003.

KUZKAYA, N. et al. Interactions of peroxynitrite, tetrahydrobiopterin, ascorbic acid, and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric-oxide synthase. **J Biol Chem**, v. 278, n. 25, p. 22546-54, Jun 20 2003.

LIN, R. T. et al. Political and social determinants of life expectancy in less developed countries: a longitudinal study. **BMC Public Health**, v. 12, p. 85, Jan 27 2012.

MARSDEN, P. A. et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. **J Biol Chem**, v. 268, n. 23, p. 17478-88, Aug 15 1993.

MIKHED, Y.; DAIBER, A.; STEVEN, S. Mitochondrial Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Damage and Their Role in Age-Related Vascular Dysfunction. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 7, p. 15918-15953, 2015.

MIOT, H. A. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. **J Vasc Bras**, v. 10, n. 4, 2011.

MONCADA, S. Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. **Ann N Y Acad Sci**, v. 811, p. 60-7, 1997.

NORTON, GAVIN R.; BROOKSBANK, R.; WOODIWISS, ANGELA J. Gene variants of the renin-angiotensin system and hypertension: from a trough of disillusionment to a welcome phase of enlightenment? **Clinical Science**, v. 118, n. 8, p. 487-506, 2010.

ORSANO, V. S. M. et al. Comparison of the acute effects of traditional versus high velocity resistance training on metabolic, cardiovascular, and psychophysiological responses in elderly hypertensive women. **Clin Interv Aging**, v. 13, p. 1331-1340, 2018.

PARATI, G. et al. Assessment and management of blood-pressure variability. **Nature Reviews Cardiology**, v. 10, p. 143, 02/12/online 2013.

PEREIRA, J. C.; BARRETO, S. M.; PASSOS, V. M. A. O perfil de saúde cardiovascular dos idosos brasileiros precisa melhorar: estudo de base populacional. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 91, p. 1-10, 2008.

PESCATELLO, L. S. et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 3, p. 533-53, Mar 2004.

PONNUSWAMY, P. et al. eNOS Protects from Atherosclerosis Despite Relevant Superoxide Production by the Enzyme in apoE^{-/-} Mice. **PLOS ONE**, v. 7, n. 1, p. e30193, 2012.

RAMOS, A. M. et al. Marcadores inflamatórios da doença cardiovascular em idosos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, p. 233-240, 2009.

ROBERTS, C. K.; SINDHU, K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. **Life Sci**, v. 84, n. 21-22, p. 705-12, May 22 2009.

ROSÁRIO, T. M. et al. Prevalência, controle e tratamento da hipertensão arterial sistêmica em Nobres - MT. **Arq. Bras. Cardiol**, v. 93, n. 6, 2009.

SBH. Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol** v. 95(1 supl.1), p. 1-51, 2010.

SBH. Sociedade Brasileira de Hipertensão. VII Diretrizes de Hipertensão Brasileira. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3, 2016.

SESSA, W. C. et al. Chronic exercise in dog increase coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. **Circ Res.**, v. 74, n. 2, p. 349-53, 1994.

SHANKARISHAN, P. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms and the Risk of Hypertension in an Indian Population. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 11, 2014.

SPONTON, C. H. G. et al. Women with TT genotype for eNOS gene are more responsive in lowering blood pressure in response to exercise. **European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, v. 17, n. 6, p. 676-681, 2010.

TANG, W. et al. Association between a G894T polymorphism of eNOS gene and essential hypertension in Hani and Yi minority groups of China. **Archives of Medical Research.**, v. 39, n. 2, p. 222-225, 2008.

THIJSSSEN, D. H. J. et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 300, n. 1, p. H2-H12, 2011.

TRAPÉ, A. A. et al. The relationship between training status, blood pressure and uric acid in adults and elderly. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 13, n. 1, p. 44, June 21 2013.

TRAPÉ, A. A. et al. Effect of Multicomponent Training on Blood Pressure, Nitric Oxide, Redox Status, and Physical Fitness in Older Adult Women: Influence of Endothelial Nitric Oxide Synthase (NOS3) Haplotypes. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, p. 2578950-2578950, 2017.

TSUKADA, T. et al. Evidence of association of the eNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 245, n. 1, p. 190-3, Apr 7 1998.

VASCONCELOS-RAPOSO, J. et al. Relação entre exercício físico, depressão e índice de massa corporal. **Motricidade**, v. 5, p. 21-32, 2009.

VÁSQUEZ-VIVAR, J. et al. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: The influence of cofactors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 16, p. 9220-9225, 1998.

WANG, X. L. et al. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. **Nature Medicine**, v. 2, n. 1, p. 41-45, 1996/01/01 1996.

WHALEY, M. H. et al. **ACSM's guidelines for exercise testing and prescription**. Philadelphia, Pa.: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. ISBN 0781745063 9780781745062 078174590X 9780781745901.

WHO, W. H. O. Cardiovascular diseases (CVDs) Fact Sheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>, 2012.

XIE, X. et al. Endothelial nitric oxide synthase gene single nucleotide polymorphisms and the risk of hypertension: A meta-analysis involving 63,258 subjects. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 39, n. 2, p. 175-182, 2017/02/17 2017.

ZAGO, A. S.; KOKUBUN, E.; REIS SILVEIRA, L. Effects of aerobic exercise on the blood pressure, oxidative stress and eNOS gene polymorphism in pre-hypertensive older people. **European Journal of Applied Physiology**, v. 110, n. 4, p. 825-832, November 01 2010.

ZAGO, A. S.; ZANESCO, A. Nitric oxide, cardiovascular disease and physical exercise. **Arq Bras Cardiol**, v. 87, n. 6, p. e264-70, Dec 2006.

ANEXOS

ANEXO I - Teste Ergométrico Submáximo (determinação do VO_{2max})

Teste Ergométrico – Protocolo de Balke

A determinação do VO_{2max} , será realizado por meio de um teste em esteira ergométrica utilizando-se o protocolo de Balke modificado, que permiti estimar o VO_{2max} dos participantes (FARINATTI, 2008). O protocolo será realizado em esteira adaptada, em que a cada dois minutos há aumentos progressivos na carga de trabalho, por meio de incrementos na inclinação da esteira, iniciando com a inclinação de 0% e aumento de 2% a cada dois minutos, mantendo a velocidade constante entre 1,6 a 7,2 km/h (FARINATTI, 2008). A velocidade constante é definida subjetivamente de acordo com as experiências de cada individuo. A frequência cardíaca foi monitorada através de frequencímetro (marca Polar, modelo RS 800CX) em batimentos por minuto. Antes do teste e ao final de cada estágio será medida a pressão arterial e avaliada a percepção subjetiva de esforço por meio da Escala de Borg (BORG, 1982). O teste contará sempre com a presença de pelo menos dois pesquisadores, um responsável pelo monitoramento da pressão arterial e outro pelo monitoramento da frequência cardíaca (FC) e controle da esteira. O teste não será realizado nos casos em que o participante apresentar pressão arterial acima de 140/90 mmHg antes do esforço físico. Para encerramento do teste serão adotados os seguintes critérios: a) alcançar 75% da frequência cardíaca máxima (dada pela fórmula de Karvonen: $220 - \text{idade em anos}$); b) o indivíduo declarar exaustão alegando não conseguir prosseguir com o teste; c) elevação muito rápida da frequência cardíaca no primeiro minuto de esforço físico; d) elevação da pressão arterial diastólica, ou queda persistente da pressão arterial sistólica mesmo com aumento da intensidade do esforço, baseado nos critérios da VII Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Teste Ergométrico (2016).

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Informações do Participante da Pesquisa

Nome:	
Documento de Identidade nº:	Sexo: () M () F

Título do Projeto de Pesquisa: Análise comparativa dos efeitos do exercício físico agudo e crônico sobre os sistemas biológicos e neurais envolvidos na regulação da pressão arterial e na função vascular de adultos e idosos com diferentes níveis de condicionamento físico

1. **Duração da Pesquisa:** duração total de 4 anos

2. **Nome do pesquisador responsável:** Prof. Dr. Anderson Saranz Zago

3. **Cargo/ Função:** Professor Doutor;

4. **Instituição:** Depto de Educação Física / Faculdade de Ciências / UNESP - Bauru

Eu, Anderson Saranz Zago, professor do Departamento de Educação Física / UNESP – Bauru gostaria de convidá-lo(a) a participar deste projeto de pesquisa. Todas as informações/dúvidas sobre este projeto podem ser esclarecidas por este documento ou pessoalmente e a qualquer momento durante a realização do mesmo.

Objetivo / Procedimentos e avaliações: O objetivo geral deste projeto de pesquisa será realizar uma análise comparativa dos 3 sistemas biológicos e do sistema neural envolvidos na regulação da pressão arterial, de adultos e idosos, com diferentes níveis de condicionamento físico, num momento de repouso, quando submetidos a 1 sessão de exercício físico e, após período de 4 meses de um programa regular de exercícios físicos. Resumidamente nossa hipótese é que as pessoas que praticam exercícios físicos possuam melhor condicionamento físico e, conseqüentemente, um melhor controle da pressão arterial e menor fator de risco de doenças cardiovasculares. Para a realização deste projeto serão propostas as seguintes etapas: (a) Responderemos um questionário inicial para a obtenção de informações sobre hábitos de vida, sobre sua percepção de qualidade de vida e, iremos esclarecer todas as suas dúvidas; (b) Avaliaremos sua pressão arterial para verificar se está alta ou normal; (c) Avaliaremos a composição corporal por um aparelho chamado DEXA que mede a porcentagem de gordura corporal, porcentagem de músculo e a densidade mineral óssea; (d) Realizaremos uma avaliação para verificar o grau de rigidez da artéria (vaso sanguíneo) através de eletrodos colados nos braços e pernas; (e) Realizaremos um teste na esteira ergométrica para verificar o nível de condicionamento físico atual. Faremos uma sessão de exercício leve na esteira ergométrica utilizando um aparelho que registra a frequência cardíaca; (f) Realizaremos também uma coleta de sangue, em jejum de 12 horas para avaliar a quantidade de gordura (colesterol, triglicérides, LDL e HDL) e de açúcar no sangue (glicose) e, ainda, diversas substâncias presentes no sangue e que contribuem para controlar a pressão arterial e, também, fazemos uma análise genética para verificar uma pré-disposição para a hipertensão arterial. Uma segunda coleta de sangue, em dia diferente, também será realizada antes e depois da sessão de exercício físico para verificar a variação dessas substâncias durante a realização do exercício;

Após essas avaliações, o(a) senhor(a) será convidado a se engajar em um programa regular de exercícios físicos promovido pelo projeto de extensão IDOSO ATIVO ou outra instituição "parceira" neste projeto, como por exemplo o SESC e a USP. Após 4 meses de participação nesses projetos, todas as avaliações relatadas anteriormente serão refeitas.

Desconfortos e riscos possíveis e os benefícios esperados: (a) Nas coletas de sangue existe há probabilidade de você sentir uma pequena dor proveniente da "picada" da agulha e do seu braço ficar, por algum tempo, com uma mancha roxa após a coleta de sangue. É importante ressaltar que a coleta de sangue será realizada com material

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

descartável, esterilizado e por uma profissional (biomédica) treinada neste tipo de coleta; (b) Durante o teste na esteira pode ocorrer algum desconforto (cansaço). Mas, todos esses riscos serão minimizados, pois, a todo o momento, você será acompanhado(a) por um profissional de educação física que lhe fornecerá todas as informações sobre o teste que estará ocorrendo. Cabe ressaltar que este teste não é “máximo”, ou seja, você não precisará caminhar até ficar extremamente cansado(a); (c) Na avaliação de composição corporal, o aparelho do DEXA emite uma quantidade muito pequena de radiação que NÃO oferece risco algum à sua saúde; (d) Os riscos inerentes à participação no programa de exercício físico serão minimizados pois todas as atividades serão adequadas a sua condição de saúde e de condicionamento físico e você será acompanhada a todo momento por um profissional de educação física.

Esclarecimentos: É importante que todas as suas dúvidas sejam esclarecidas antes de sua participação no estudo. Esta participação não é obrigatória, mas sim voluntária. Desta forma, o(a) senhor(a) terá liberdade, a qualquer momento, de se recusar a continuar participando da pesquisa e retirar o seu consentimento, sem qualquer penalização ou prejuízo. A participação nesta pesquisa não trará gastos nem benefícios financeiros e todos os resultados das avaliações serão disponibilizados e explicados ao final da pesquisa.

Confidencialidade: Todas as informações obtidas no estudo serão confidenciais e o seu nome não será divulgado em momento algum. Apenas terão acesso a essas informações o(a) senhor(a) e o pesquisador responsável. Ainda, toda e qualquer informação será utilizada para fins acadêmicos exclusivos deste projeto com a publicação em revistas científicas e apresentação em congressos. Ainda, cabe ressaltar que todo o armazenamento e manuseio do material biológico coletado (sangue) estarão de acordo com o Conselho Nacional de Saúde e ao final da pesquisa, estes materiais serão descartado de acordo com as normas do Laboratório de Resíduo Biológico da Instituição.

Informações do Responsável pela Pesquisa: PROF DR. ANDERSON SARANZ ZAGO / Departamento de Educação Física / UNESP / Praça de Esportes - Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01, CEP: 17033-360 - Bauru, SP
Fone: (14) 3103-6082 – ramal 9436

Informações do Comitê de Ética: PROF DR. MÁRIO LÁZARO CAMARGO (coordenador) / Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01, CEP: 17033-360 - Bauru, SP / UNESP. Fone: (14) 3103-9400 / ceppesquisa@fc.unesp.br

Declaro que após esclarecido todas as dúvidas pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar da presente pesquisa.

Assinatura do participante

Prof Dr Anderson Saranz Zago
Pesquisador responsável

APÊNDICE B - Parecer Consubstanciado do Cep

UNESP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS CAMPUS BAURU -
JÚLIO DE MESQUITA FILHO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE COMPARATIVA DOS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO AGUDO E CRÔNICO SOBRE OS SISTEMAS BIOLÓGICOS E NEURAIS ENVOLVIDOS NA REGULAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL E NA FUNÇÃO VASCULAR DE ADULTOS E IDOSOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE CONDICIONAMENTO FÍSICO

Pesquisador: Anderson Saranz Zago

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 78732617.2.0000.5398

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.422.919

Apresentação do Projeto:

O projeto pretende realizar uma análise comparativa dos sistemas biológicos e neurais envolvidos na regulação da pressão arterial e na função vascular de adultos e idosos com diferentes níveis de condicionamento físico, num momento de repouso e, avaliar como tais sistemas responderiam quando submetidos ao exercício físico agudo e crônico (após 4 meses de exercício).

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral deste projeto de pesquisa é realizar uma análise comparativa dos 3 sistemas biológicos e neurais envolvidos na regulação da pressão arterial e na função vascular de adultos e idosos com diferentes níveis de condicionamento físico, num momento de repouso, quando submetidos ao exercício físico agudo e, após 4 meses de participação num programa regular de exercícios físicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:(a) Nas coletas de sangue existe há probabilidade de se sentir uma pequena dor proveniente da "picada" da agulha e do braço ficar, por algum tempo, com uma mancha roxa após a coleta de sangue; (b) Durante o teste na esteira pode ocorrer algum desconforto (cansaço); (c) Na

Endereço: Av. Luiz Edmundo Carrijo Coube, nº 14-01

Bairro: CENTRO

CEP: 17.033-360

UF: SP

Município: BAURU

Telefone: (14)3103-9400

Fax: (14)3103-9400

E-mail: cepesquisa@fc.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS CAMPUS BAURU -
JÚLIO DE MESQUITA FILHO



Continuação do Parecer: 2.422.919

avaliação de composição corporal, o aparelho do DEXA emite uma quantidade muito pequena de radiação que NÃO oferece risco algum à sua saúde; (d) Os riscos inerentes à participação no programa de exercício físico serão minimizados pois todas as atividades serão adequadas a sua condição de saúde e de condicionamento físico e você será acompanhada a todo momento por um profissional de educação física.

Benefícios: conhecer a atual condição de saúde do participante. A participação no programa de exercícios físicos trará benefícios em virtude da prática dos exercícios.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Se as hipóteses do pesquisador forem confirmadas será possível concluir que manter bons níveis de condicionamento físico é imprescindível para a manutenção da pressão arterial em níveis normais e para preservar a função endotelial.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE está claro e com todos os itens necessários.

Recomendações:

Nada a recomendar

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nada a acrescentar.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto considerado aprovado por estar em conformidade com os parâmetros legais, metodológicos e éticos analisados pelo colegiado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1007702.pdf	04/10/2017 19:29:37		Aceito
Folha de Rosto	FRosto.pdf	04/10/2017 18:58:24	Anderson Saranz Zago	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	03/10/2017 08:22:42	Anderson Saranz Zago	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	03/10/2017 08:22:17	Anderson Saranz Zago	Aceito

Endereço: Av. Luiz Edmundo Carrijo Coube, nº 14-01

Bairro: CENTRO

CEP: 17.033-360

UF: SP

Município: BAURU

Telefone: (14)3103-9400

Fax: (14)3103-9400

E-mail: cepesquisa@fc.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS CAMPUS BAURU -
JÚLIO DE MESQUITA FILHO



Continuação do Parecer: 2.422.919

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BAURU, 07 de Dezembro de 2017

Assinado por:
Mário Lázaro Camargo
(Coordenador)

Endereço: Av. Luiz Edmundo Carrijo Coube, n° 14-01

Bairro: CENTRO **CEP:** 17.033-360

UF: SP **Município:** BAURU

Telefone: (14)3103-9400 **Fax:** (14)3103-9400 **E-mail:** cepesquisa@fc.unesp.br

APÊNDICE C - Anamnese

ANAMNESE – PROJETO IDOSO ATIVO

CADASTRO

IDENTIFICAÇÃO

Data: ___/___/___

Nome Paciente: _____
 Data Nascimento: ___/___/___ Idade: _____ Sexo: ()
 Etnia: () Índio () Branco () Negro () Pardo () Amarelo
 Endereço: _____
 Bairro: _____, Cidade: _____, CEP: _____
 Telefone Residencial () _____ - _____ Telefone Celular () _____ - _____
 Contato de Emergência () _____ - _____
 E-mail: _____ Grupo: _____

PRÁTICA EXERCÍCIO FÍSICO ATUALMENTE? () Sim () Não

Se SIM, há quanto tempo?

() < 6 meses () Até 1 ano () Até 5 anos () Até 10 anos () > 10 anos (___ Anos)

Há supervisão de um profissional? () Sim () Não

TIPO: _____ / FREQUENCIA: ___x/semana / DURAÇÃO: ___min/sessão.

TIPO: _____ / FREQUENCIA: ___x/semana / DURAÇÃO: ___min/sessão.

TIPO: _____ / FREQUENCIA: ___x/semana / DURAÇÃO: ___min/sessão.

TIPO: _____ / FREQUENCIA: ___x/semana / DURAÇÃO: ___min/sessão.

TRIAGEM DE SAÚDE

() Obesidade

SINTOMAS

- () Dor no peito (angina)
 () Falta de ar (dispneia)
 () Taquicardia
 () Quando fica nervoso, sente algo diferente ?

ENFERMIDADES

- () Convulsões
 () Dores de Cabeça Frequentes
 () Infarto do Miocárdio
 () Acidente Vascular Cerebral
 () Insuficiência Cardíaca Congestiva
 () Câncer _____
 () Hipertireoidismo
 () Estados Alérgicos
 () Depressão
 () Labirintite
 () Outras: _____

FATORES DE RISCO

- () Colesterol Elevado
 () Triglicérides Elevado
 () Hipertensão Arterial
 () Diabetes () Tipo I / () Tipo II
 () Sedentarismo
 () Estresse

CIRURGIAS: _____ HÁ QUANTO TEMPO: _____

MENOPAUSA: _____ HÁ QUANTO TEMPO: _____

REPOSIÇÃO HORMONAL: () sim / () não / HÁ QUANTO TEMPO: _____

TABAGISMO () Sim () Não

() Menos de 6 meses () Até 1 ano () Até 5 anos () Até 10 anos () Mais de 10 anos

Se NÃO, mas já fumou, quanto tempo parou ?

() Menos de 6 meses () Até 1 ano () Até 5 anos () Até 10 anos () Mais de 10 anos

INGESTÃO DE BEBIDA ALCOOLICA () Sim () Não

- () Diariamente ___ vezes no dia () Apenas aos fins de semana
 () Semanalmente ___ vezes na semana () Nunca

TERAPÊUTICA

MEDICAMENTOS	FINALIDADE	DOSE (mg)	X no dia		
			M	T	N

Apresenta alguma reação adversa ao medicamento? Ex: náusea, dor de cabeça, indigestão? Se SIM, descreva:

AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA

Itens de Conforto	Não Possui	Quantidade que Possui			
		1	2	3	+4
Quantidade de automóveis de passeio exclusivamente para uso particular					
Quantidade de empregados mensalistas, considerando apenas os que trabalham pelo menos cinco dias por semana					
Quantidade de máquinas de lavar roupa, excluindo tanquinho					
Quantidade de banheiros					
DVD, incluindo qualquer dispositivo que leia DVD e desconsiderando DVD de automóvel					
Quantidade de geladeiras					
Quantidade de <i>freezers</i> independentes ou parte da geladeira duplex					
Quantidade de microcomputadores, considerando computadores de mesa, laptops, notebooks e netbooks e desconsiderando tablets, palms ou smartphones					
Quantidade de lavadora de louças					
Quantidade de fornos de micro-ondas					
Quantidade de motocicletas, desconsiderando as usadas exclusivamente para uso profissional					
Quantidade de máquinas secadoras de roupas, considerando lava e seca					

A água utilizada neste domicílio provém de:	
1	Rede geral de distribuição
2	Poço ou nascente
3	Outro meio

Considerando o trecho da rua do seu domicílio, você diria que a rua é:	
1	Asfaltada/Pavimentada
2	Terra/Cascalho

Qual é o grau de instrução do chefe da família? Considere como chefe da família a pessoa que contribui com a maior parte da renda do domicílio.

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Analfabeto | <input type="checkbox"/> Médio completo |
| <input type="checkbox"/> Fundamental incompleto | <input type="checkbox"/> Superior incompleto |
| <input type="checkbox"/> Fundamental completo | <input type="checkbox"/> Superior completo |
| <input type="checkbox"/> Médio incompleto | |

APÊNDICE D - Exercício Físico Agudo

Exercício Físico Agudo

Após um período de aquecimento (5 minutos de caminhada leve), os participantes realizaram uma caminhada em esteira ergométrica a uma intensidade entre 40-60% do $VO_{2máx}$ com duração de 40 minutos. Em seguida, a intensidade do exercício foi gradativamente reduzida (1 minuto de caminhada leve). A FC referente à intensidade do $VO_{2máx}$ foi calculada a partir dos dados de $VO_{2máx}$ e FC, obtidos no teste ergométrico submáximo, por meio de regressão linear entre essas duas variáveis, sendo possível elaborar uma equação de predição e uma relação linear entre FC e $VO_{2máx}$ durante o teste (BOT; HOLLANDER, 2000).

Cabe ressaltar que a intensidade de 40-60% do $VO_{2máx}$ foi escolhida, pois tem sido relatado na literatura que exercícios de baixa a moderada intensidade (40-60% do $VO_{2máx}$) acarretam melhores resultados para o controle da PA quando comparados com exercícios de maior intensidade. Além da intensidade, o tipo de exercício escolhido também está de acordo com o preconizado pela literatura, sendo os exercícios físicos aeróbios os mais indicados e eficazes como terapia alternativa (ou concomitante com a terapia farmacológica) para o tratamento de hipertensão leve ou moderada (PESCATELLO et al., 2004).