



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Faculdade de Ciências - Bauru



**THIAGO PEREIRA DE SOUZA**

**SUPLEMENTAÇÃO DE NITRITO E EXERCÍCIO FÍSICO: EFEITO  
NA PRESSÃO ARTERIAL E RIGIDEZ ARTERIAL DE RATOS  
TREINADOS E NÃO TREINADOS**

**Bauru  
2018**

**THIAGO PEREIRA DE SOUZA**

**SUPLEMENTAÇÃO DE NITRITO E EXERCÍCIO  
FÍSICO: EFEITO NA PRESSÃO ARTERIAL E  
RIGIDEZ ARTERIAL DE RATOS TREINADOS E  
NÃO TREINADOS**

**Orientador: Prof. Dr. Anderson Saranz Zago**

**Co-orientador: André Mourão Jacomini**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Bauru, para obtenção do grau de Bacharel em Educação Física.

**Bauru  
2018**

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus,  
por ser sempre meu guia independente da  
situação, me dando força, sabedoria e paciência.*

*À meus pais Elaine e Ademir,  
que sempre foram meus exemplos de vida, amor  
e batalha. Muito obrigado por tudo!*

*À meus tios Sergio e Virginia,  
que sempre foram meus mentores, que me  
incentivaram desde o início, e acreditaram em  
mim até quando nem eu mesmo acreditava.*

## **AGRADECIMENTO**

Aos meus pais, Elaine Aparecida Pereira e Ademir Pereira de Souza, a quem serei eternamente grato, que me deram todo o apoio emocional e financeiro, por todo o incentivo e inspiração, agradeço imensamente a Deus por ter me dado vocês.

Aos meus tios, Sérgio Pereira e Virginia Richini, pelo os exemplos que são para mim, que me incentivaram desde o início, e foram meus mentores no meu desenvolvimento pessoal e acadêmico, e pelos ensinamentos transmitidos.

À minha família que foi minha base e sempre acreditaram em mim, me incentivando a buscar meus objetivos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Anderson Saranz Zago, que acreditou no meu potencial e contribuiu imensamente para o desenvolvimento desse trabalho e foi fundamental para a minha formação.

Ao meu co-orientador, Doutorando André Mourão Jacomini, que me deu apoio em todo o desenvolvimento do trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Aos amigos do Centro de Estudos de Doenças não transmissíveis, Envelhecimento e Exercício físico (CEDEE) ao qual faço parte, que auxiliaram na realização deste trabalho e no dia a dia colaborando para meu desenvolvimento acadêmico tornaram esta jornada menos árdua.

A todos do Laboratório Experimental de Fisiologia do Exercício (LEFEx), em especial a Prof. Dra. Sandra Lia do Amaral Cardoso, e sua aluna Lidielli Pazin Tardelli, por todo o apoio no desenvolvimento deste trabalho, que inúmeras vezes me receberam de portas abertas e com paciência para esclarecer minhas

dúvidas.

Aos meus amigos, Elisa Carvalho, Henrique Pereira Santiago, Luiz Gustavo Almeida, Melissa Ligeiro e Rodrigo Fernandes, que me deram apoio no desenvolvimento não só deste trabalho, mas de todos os outros ao longo do período de graduação e tornaram essa jornada mais leve e divertida, tenho certeza que levarei todos os momentos vividos para o resto da vida. Muito obrigado!

Ao meu amigo Gabriel Dolte Slomp, pelo irmão que é para mim, que sempre foi meu braço direito e meu ombro amigo, que sempre me apoiou em todo o processo da graduação.

A minha amiga Leticia Conte, que dividiu comigo todas as frustrações e dificuldades do dia a dia, que sempre esteve ao meu lado para o que precisasse e me deu força nessa reta final de graduação.

A todos os alunos envolvidos no projeto de extensão Idoso Ativo na Associação dos Diabéticos de Bauru, que colaboraram imensamente para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

E por fim a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Bauru, e ao corpo docente do curso de Educação Física, por toda a estrutura proporcionada durante meu desenvolvimento acadêmico.

“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível”.

(Charles Chaplin)

## RESUMO

A hipertensão arterial (HA) é considerada um importante problema de saúde pública e um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O exercício físico tem sido cada vez mais recomendado como forma de tratamento da HA, uma vez que promove diversos benefícios cardiovasculares. O óxido nítrico (NO) se destaca como um mecanismo humoral de controle da pressão arterial (PA), por ser um potente vasodilatador. Neste contexto a suplementação de nitrito, um metabólito do NO, pode estimular a via Nitrato/Nitrito/NO. Contudo, pouco se sabe sobre os efeitos de sua suplementação em animais sedentários e treinados. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito da suplementação de nitrito na capacidade física, PA e rigidez arterial em ratos treinados e sedentários. 40 ratos (Wistar) divididos em: Sedentário Controle (SC) e suplementado (SN), Treinado Controle (TC) e suplementado (TN). Os animais foram submetidos a um protocolo de treinamento físico (TF) em esteira ergométrica (60% da capacidade máxima, 1h/dia, 5 vezes/semana, 66 dias) ou mantidos sedentários. Nos últimos 6 dias de protocolo experimental, receberam suplementação com nitrito ou água (15 mg/Kg, via gavagem). A capacidade física máxima e velocidade de onda de pulso (VOP) foram avaliadas antes e após ao período de suplementação, e PA caudal e concentrações de nitrito plasmático ao final do protocolo experimental. Após o período de TF e suplementação, os ratos foram eutanasiados por decapitação. Para análise estatística foi utilizada ANOVA de dois caminhos e post-hoc de Tukey( $p < 0,05$ ). O TF não foi eficaz em reduzir a VOP comparado ao grupo sedentário (TC vs SC) e a suplementação com nitrito não foi eficaz em diminuir a VOP nos grupos sedentários comparado ao controle (SN vs SC). Por outro lado, o TF associado à suplementação com nitrito foi eficaz em reduzir a VOP nos animais treinados em 19,9%, (TN=  $1,35 \pm 0,26$  m/s vs TC=  $1,62 \pm 0,24$  m/s). O TF se mostrou eficaz em reduzir em 10,2% os valores de PA caudal (TC  $127,2 \pm 3,6$  mmHg vs SN=  $141,6 \pm 8,5$  mmHg) e a suplementação com nitrito, per se, também determinou redução de 8,8% de PA (SN=  $129,1 \pm 3,1$  mmHg vs SC=  $141,6 \pm 8,5$  mmHg). Quanto à dosagem de nitrito no sangue, o TF não se mostrou eficaz em aumentar as concentrações (TC=  $0,26 \pm 0,1$  vs SC=  $0,34 \pm 0,14$  nitrito/mg de proteína). No entanto, os grupos suplementados apresentaram concentrações plasmáticas superiores (SN=  $4,59 \pm 3,7$  vs SC=  $0,34 \pm 0,14$  nitrito/mg de

proteína). Do mesmo modo, o TF associado ao nitrito também induziu o aumento das concentrações plasmáticas, comparado ao seu respectivo controle (TN=  $4,89 \pm 4,0$  vs TC=  $0,26 \pm 0,1$ ). Estes resultados sugerem que o TF mostrou ser uma estratégia importante para diminuir PA mesmo sem promover alterações na VOP e nas concentrações de nitrito plasmático. Por outro lado, a suplementação com nitrito demonstrou ser eficiente na redução da rigidez arterial e valores de PA. Conclui-se que o TF aeróbio aliado à suplementação com nitrito promove importantes benefícios cardiovasculares, tais como melhora na rigidez arterial e controle da PA.

**Palavras-chave:** Óxido nítrico, treinamento físico, velocidade de onda de pulso, hipertensão arterial.



## ABSTRACT

Hypertension (AH) is considered a major public health problem and one of the main risk factors for the development of cardiovascular diseases. Physical exercise has been increasingly recommended as a form of HA treatment, since it promotes several cardiovascular benefits. Nitric oxide (NO) stands out as a humoral mechanism of blood pressure (BP) control, because it is a potent vasodilator. In this context, nitrite supplementation, an NO metabolite, can stimulate the Nitrate / Nitrite / NO pathway. However, nothing is known about the effects of its supplementation on sedentary and trained animals. Thus, the objective of this study was to verify the effect of nitrite supplementation on physical capacity, BP and arterial stiffness in trained and sedentary rats. 40 rats (Wistar) divided into: Sedentary Control (SC) and supplemented (SN), Trained Control (TC) and supplemented (TN). The animals were submitted to a treadmill exercise training protocol (TF) (60% of the maximum capacity, 1h/day, 5 times/week, 66 days) or maintained sedentary. In the last 6 days of the experimental protocol, they received supplementation with nitrite or water (15mg/kg, via gavage). Maximum physical capacity and pulse wave velocity (PWV) were assessed before and after the supplementation period, and caudal BP and plasma nitrite concentrations at the end of the experimental protocol. After the TF period and supplementation, the rats were euthanized by decapitation. Two-way ANOVA and Tukey post-hoc ( $p < 0.05$ ) were used for statistical analysis. TF was not effective in reducing PWV compared to the sedentary group (TC vs SC) and nitrite supplementation was not effective in decreasing PWV in the sedentary groups compared to control (SN vs SC). On the other hand, TF associated with nitrite supplementation was effective in reducing PWV in trained animals in 19.9% (TN=1.35±0.26 m/s vs TC = 1.62±0.24 m/s). The TF was effective in reducing the BP values (TC 127.2 ± 3.6 mmHg vs NS = 141.6 ± 8.5 mmHg) by 10.2%, and the nitrite supplementation, therefore, also reduced of 8.8% of BP (SN = 129.1±3.1 mmHg vs SC = 141.6±8.5 mmHg). As for the nitrite dosage in the blood, TF was not effective in increasing concentrations (TC = 0.26±0.1 vs SC = 0.34±0.14 nitrite / mg protein). However, the supplemented groups had higher plasma concentrations (SN = 4.59±3.7 vs. SC = 0.34±0.14 nitrite / mg protein). Likewise, TF associated with nitrite also induced an increase in plasma concentrations, compared to its respective control (TN = 4.89±4.0 vs TC = 0.26±0.1). These results suggest that TF proved to be an important strategy to reduce BP even without promoting changes in PWV and plasma nitrite. On the other hand, nitrite supplementation has been shown to be efficient in reducing arterial stiffness and BP values. It is concluded that aerobic TF combined with nitrite supplementation promotes important cardiovascular benefits, such as improvement in arterial stiffness and BP control.

**Keywords:** Nitric oxide, physical training, pulse wave velocity, hypertension.

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 – Protocolo Experimental .....	17
---	----

## **LISTA DE GRÁFICOS**

Gráfico1 – Teste de esforço máximo 1 .....	20
Gráfico 2 – Teste de esforço máximo 3 .....	21
Gráfico 3 – Teste de esforço máximo 4 .....	21
Gráfico 4 – Velocidade de onda de Pulso 1 .....	22
Gráfico 5 – Velocidade de onda de Pulso 2.....	22
Gráfico 6 – Pressão arterial caudal.....	23
Gráfico 7 – Concentrações de nitrito plasmático .....	23

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

eNOS – Enzima óxido nítrico sintase

HA – Hipertensão Arterial

NO – Óxido Nítrico

PA – Pressão Arterial

PA caudal – Pressão Arterial Caudal

PC – Peso Corporal

SC – Sedentário Controle

SN – Sedentário Nitrito

TC – Treinado Controle

TEM – Teste de Esforço Máximo

TN – Treinado Nitrito

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVO .....	16
3 METODOLOGIA.....	17
3.1 Teste de Esforço Máximo.....	17
3.2 Treinamento Físico e Tratamento Farmacológico.....	17
3.3 Velocidade de Onda de Pulso .....	18
3.4 Medida de Pressão Arterial.....	18
3.5 Análise das concentrações de nitrito plasmático .....	19
3.6 Análise Estatística .....	19
4 RESULTADOS .....	20
4.1 Capacidade Física Máxima.....	20
4.2 Velocidade de onda de pulso .....	21
4.3 Pressão Arterial Caudal .....	22
4.4 Concentrações de Nitrito Plasmático.....	23
5 DISCUSSÃO .....	24
6 CONCLUSÃO.....	27
7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO .....	28
8 REFERENCIAS .....	29
9 ANEXOS .....	31

## 1 INTRODUÇÃO

A pressão arterial (PA) é a força em que o sangue exerce contra as paredes das artérias, resultante do débito cardíaco e pela resistência vascular periférica, e qualquer alteração nesses dois parâmetros, interfere nos valores pressóricos (LATERZA *et al.*, 2008)

A hipertensão arterial (HA) pode ser conceituada por pressão arterial sistólica superior a 140 mmHg e pressão arterial diastólica superior a 90 mmHg, na média de duas ou mais medidas exatas de PA. É um importante componente da síndrome metabólica, ocorrendo com grande prevalência na população obesa, diabéticos tipo 2 e idosos (LIMA, 2012). Ainda, a HA têm sido considerada como um problema importante de saúde pública em todo o mundo, uma vez que chega a atingir mais de 30% da população mundial, e mais de 60% da população acima de 65 anos, por isso é destacado como um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, e por não demonstrar sintomas, é rara a procura, por parte dos indivíduos, pelos serviços de saúde para diagnóstico e adesão ao tratamento (BLOCH *et al.*, 2015; OLIVEIRA, MOREIRA, 2010; SOUZA *et al.*, 2016; VIEIRA *et al.*, 2016; WILLIAMS, 2010).

O sedentarismo e obesidade têm contribuído substancialmente para o desenvolvimento da HÁ e o exercício físico regular tem sido cada vez mais recomendado como forma de tratamento da hipertensão arterial, uma vez que promove diversos benefícios, tais como diminuição dos valores de pressão arterial, melhora da resistência vascular periférica e maior complacência arterial (BUDCHEN *et al.*, 2013).

Em suma, o controle da PA pode ser realizado essencialmente por dois mecanismos: regulação neural, que é feita primariamente pelo sistema nervoso autônomo e, o controle humoral, que é feito por diversos tipos celulares que secretam substâncias com alto poder de controle na resistência vascular periférica (ZAGO; ZANESCO, 2006).

Dentre esses mecanismos humorais de controle da PA, o óxido Nítrico (NO) tem assumido grande destaque por ser considerado um radical livre gasoso, potente vasodilatador, que promove diversos importantes efeitos vasculares, renais e cardíacos, e com meia vida biológica curta devido a sua rápida oxidação exercida pelo oxigênio, transformando-o em nitrito e posteriormente em nitrato. A sua ação

vasodilatadora proporciona uma menor resistência periférica, e assim diminui os valores de PA (SOUZA *et al.*, 2007; ZAGO; KOKUBUN; BROWN, 2009).

Têm sido sugerido na literatura que sua concentração/produção ocorre por duas vias metabólicas: a) via eNOS/NO/GMPc em que sua produção é realizada nas células do endotélio vascular, que, na presença de oxigênio, o grupo terminal guanidino nitrogenado da L-arginina produz o radical livre gasoso NO e L-citrulina em um processo catalisado pela enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) (CERQUEIRA;YOSHIDA, 2002) e; b) a via Nitrato/Nitrito/NO em que o nitrato pode ser, lentamente, convertido em nitrito por enzimas bacterianas no microbioma. Neste contexto o consumo de nitrato via oral pode estar relacionado ao aumento das concentrações de nitrito (PIKNOVA; *et al.*, 2016). Tem sido relatado que o consumo dietético de nitrato reduz a PA, previne a disfunção endotelial e inibe a agregação plaquetária (JEDDI; *et al.*, 2016), aumentando consequentemente a concentração sanguínea de nitrito, de modo a favorecer a síntese de NO, resultando em vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo muscular, especialmente em condições de hipóxia (NICASTRO, 2016).

Apesar de existirem duas vias em que o NO é produzido, têm-se apontado que a via da eNOS é mais estimulada através de aumentos no *shear stress*, recebendo, portanto, grande influência para prática regular de exercícios físicos aeróbio, estimulando o aumento da expressão do gene da eNOS e a via Nitrato/Nitrito/NO que é estimulada através da suplementação de nitrato/nitrito.

No entanto, ainda não se sabe se a suplementação de nitrito traria um efeito adicional à prática regular de exercícios físicos no que refere-se aos valores de PA, rigidez arterial e concentrações de nitrito plasmático.

## **2 OBJETIVO**

Desta forma, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito da suplementação de Nitrito nas variáveis: pressão arterial, rigidez arterial e concentrações de nitrito plasmático em ratos treinados e sedentários.



### 3 METODOLOGIA

Foram utilizados 40 ratos machos (Wistar) provenientes do Centro de Pesquisa e Produção de animais da UNESP-Botucatu com idade de seis semanas (45 dias), com peso 250 gramas. Durante o protocolo experimental, os animais foram mantidos em gaiolas com até quatro animais, no Biotério da Faculdade de Ciências da UNESP, campus de Bauru, com ração e água fornecidos *ad libitum*, em ciclo claro escuro de 12\12 horas e temperatura controlada de 22°C.

Este projeto é parte de um projeto maior, intitulado “Suplementação de óxido nítrico e exercício físico: efeito na pressão arterial e rigidez arterial de ratos treinados e não treinados” onde já teve aprovação do Comitê de Ética no uso de Animais, ofício nº 003/2018-CEUA-FC (anexo 1).

Ao longo do protocolo um animal do grupo TN foi perdido, no procedimento de anestesia para a avaliação da velocidade de onda de pulso.

#### 3.1 Teste de esforço máximo

Os animais passaram por 10 dias de adaptação à esteira ergométrica (modificada para ratos, possuindo 10 raias suspensas de ferro, Inbramed, Millennium). Posteriormente, todos os animais realizaram o Teste de esforço máximo (TEM), através do protocolo que preconiza aumentos de 3m/min a cada 3 minutos de exercício na esteira até a exaustão, determinando assim a capacidade física máxima de forma indireta.

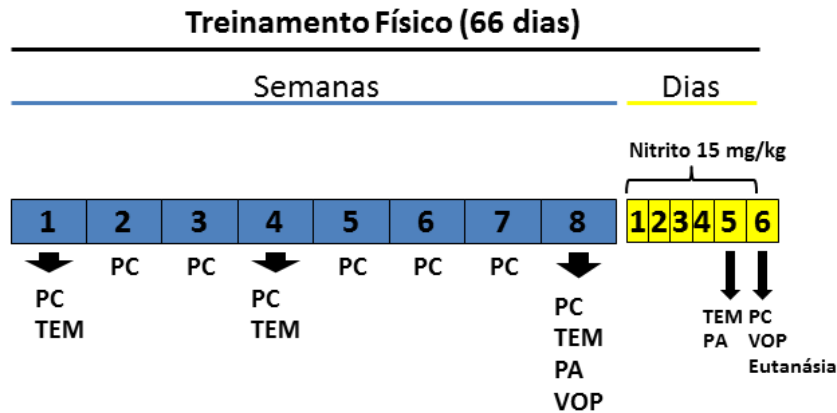
#### 3.2 Treinamento físico e Tratamento farmacológico

Após a realização do TEM, os animais foram divididos em quatro grupos (n=10/grupo), uniformemente para peso corporal e capacidade física, sendo formados os seguintes grupos:(SN) - sedentários com suplementação de nitrito; (SC) - sedentários sem suplementação (placebo); (TN) - treinados com suplementação de nitrito e; (TC) - treinados sem tratamento (placebo).

Os animais passaram por 66 dias de treinamento físico, com intensidade de 50-60% da velocidade máxima atingida no teste de TEM. Nos últimos 6 dias de

treinamento, foi iniciado a suplementação de nitrito (15mg/kg) ou placebo (água), concomitante ao treinamento, administrada por via de gavagem e posterior eutanásia.

O desenho do protocolo experimental:



**Quadro1 - Protocolo de treinamento**

### 3.3 Velocidade de Onda de pulso (VOP)

Os animais foram anestesiados com ANASEDAN® (cloridrato de xilasina, 10mg/Kg), CEVA e DOPALEN® (cloridrato de quetamina, 50mg/Kg), VETBRANDS do Brasil (na proporção de 1:1, 0,1mg/100g de peso corporal) e posicionados em decúbito ventral sobre uma mesa aquecedora. Com um dos sensores posicionados acima do cotovelo e o outro acima do joelho do animal, e assim foi avaliada a diferença da VOP entre membros superiores e inferiores pelo dispositivo recentemente lançado para animais de pequeno porte (popmètre). A VOP foi analisada pelo software pOpMET 1.0 (TousDroits reserves®, Axelife SAS 2013), ajustado de acordo com a distância medida entre os sensores. Esta avaliação teve como objetivo avaliar a rigidez arterial fornecendo dado para a discussão sobre o mecanismo de controle da PA (FABRÍCIO, 2018)

### 3.4 Medida de Pressão arterial

A medida de PA aconteceu na última semana do protocolo experimental. O método utilizado foi o de pletismografia da artéria caudal, determinando a PA de

forma indireta. Os animais foram mantidos em uma caixa de acrílico, que foi colocado dentro de uma capela aquecedora, para ocorresse vasodilatação da artéria caudal. O manguito foi colocado na porção proximal da cauda e ligado no esfigmomanômetro para insuflar. A medida foi analisada pelo transdutor de pressão (IITC Inc. Life Science – MRBP-r).

Foi realizada a medida de pressão de cauda cinco vezes e era considerado a média dessas aferições.

### **3.5 Análise das concentrações de nitrito plasmático**

No momento da eutanásia, foi coletado 5ml de sangue para análise das concentrações de NO. O material biológico foi imediatamente centrifugado à 4000 rotações por minuto, durante 5 minutos e o plasma armazenado num freezer -80°C para posterior análise. Os níveis de nitrito plasmático foram medidos pela reação das amostras com o reagente de Griess em microplacas (96 poços) em aparelho leitor de ELISA. O total de nitrito foi estimado a partir de uma curva padrão de absorbância em 592 nm (Granger et al., 1999).

### **3.6 Análise estatística**

Os dados foram descritos em média e erro padrão (EPM). A análise espectral foi utilizada para análise da rigidez arterial e uma Anova de dois caminhos e post-hoc de Tukey, tendo como variáveis independentes o treinamento e o tipo de tratamento. O nível de significância será mantido em  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Capacidade Física máxima

A avaliação da capacidade máxima foi realizada em quatro momentos: no início do protocolo (TEM1), após quatro semanas de treinamento (adequação de carga – TEM2), antes da suplementação (TEM3) e após a suplementação (TEM4).

Teste de esforço máximo (TEM 1) foi realizado no início do protocolo de treinamento, após 10 dias de adaptação a esteira. Foi constatado que não houve diferença estatística entre os grupos.

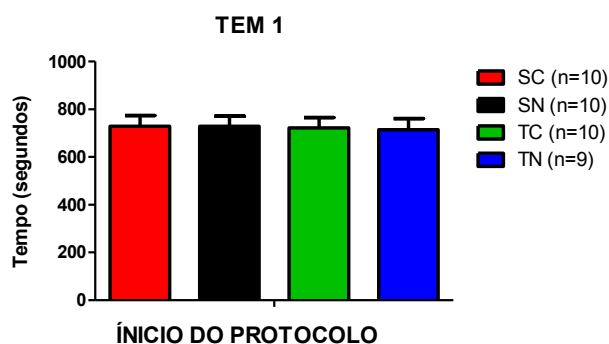
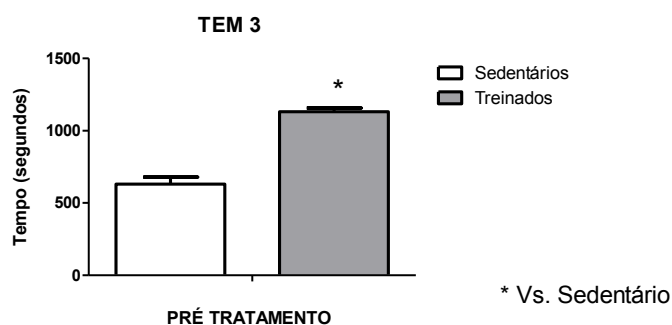


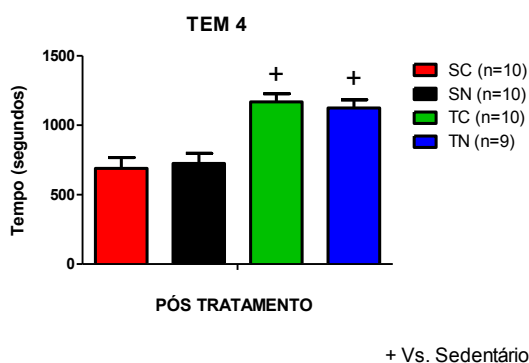
Gráfico 1 - Teste de esforço máximo realizado no início do protocolo, após 10 dias de adaptação à esteira ergométrica.

Teste de esforço máximo (TEM 3) foi realizado no final do protocolo de treinamento antes de iniciar o período de suplementação de nitrito. Foi constatado que houve diferença estatística entre os grupos Treinados (1110 seg  $\pm$  95 seg) vs sedentários (630 seg  $\pm$  235 seg), sugerindo que o treinamento aeróbio foi eficiente em melhorar a capacidade física dos animais.



**Gráfico 2 - Teste de esforço máximo realizado após 60 dias de treinamento físico, antes de iniciar o período de suplementação.**

Teste de esforço máximo (TEM 4 foi realizado no final do protocolo, após o período de suplementação de nitrito. Foi constatado que houve diferença estatística entre os grupos TN (1124 seg  $\pm$  179 seg) vs SN (725 seg  $\pm$  319 seg); TC (1170 seg  $\pm$  214 seg) vs SC (689 seg  $\pm$  201 seg), sugerindo que o treinamento aeróbico foi eficiente em melhorar a capacidade física dos animais, porém a suplementação não propôs efeitos adicionais.



**Gráfico 3 – Teste de esforço máximo realizado após 60 dias de treinamento físico, e mais 6 dias de treinamento físico associado com a suplementação de nitrito.**

## 4.2 Velocidade de onda de pulso (VOP)

A VOP foi avaliada em dois momentos: antes da suplementação e após o período de suplementação.

VOP 1 foi realizada no final do protocolo de treinamento antes de iniciar o período de suplementação de nitrito. Foi constatado que não houve diferença estatística entre os grupos. SC ( $1,63 \pm 0,27$  m/s), SN ( $1,75 \pm 0,46$  m/s), TC ( $1,6 \pm 0,22$  m/s), TN ( $1,78 \pm 0,31$  m/s).

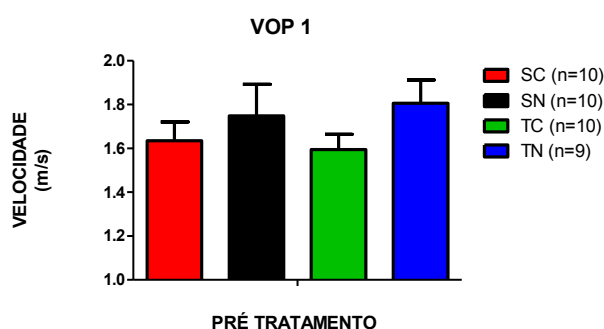


Gráfico 4 – Medida de velocidade de onda de pulso realizada após 60 dias de treinamento físico, antes de iniciar o período de suplementação.

VOP 2 foi realizada no final do protocolo de treinamento e tratamento, após 6 dias de suplementação de nitrito (15mg/Kg de peso corporal, via gavagem). Foi constatado uma tendência de diminuição para ambos os grupos tratados com nitrito, no entanto, houve diferença estatística somente entre os grupos TN ( $1,35 \pm 0,26$  m/s) vs TC ( $1,62 \pm 0,24$  m/s).

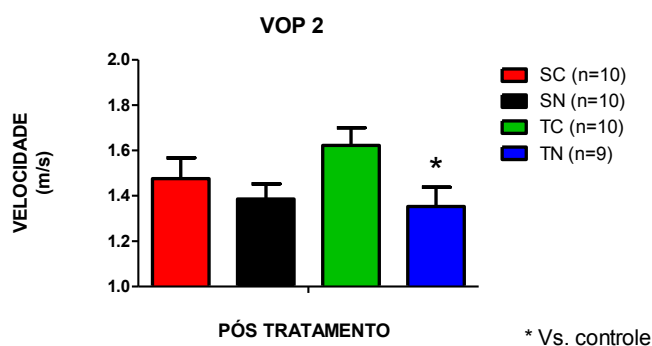
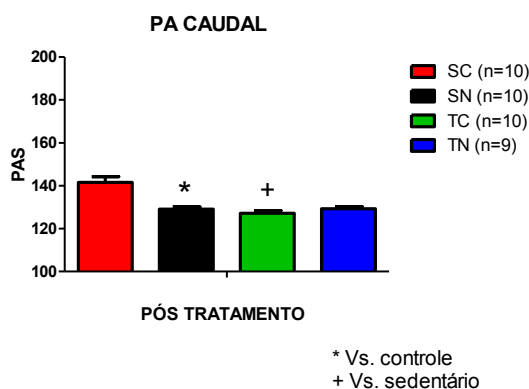


Gráfico 5 – Medida de velocidade de onda de pulso realizada após 60 dias de treinamento físico, e mais 6 dias de treinamento físico associado a suplementação de nitrito.

### 4.3 Pressão arterial caudal

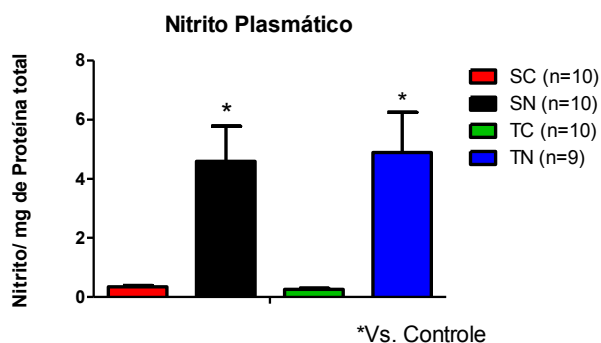
A medida de PA caudal, foi realizada no final do protocolo de treinamento e tratamento, após 6 dias de suplementação de nitrito (15mg/Kg de peso corporal). Foi constatado que reduziu estatisticamente os grupos TC ( $127,2 \pm 3,6$ mmHg) vs SC ( $141,6 \pm 8,5$  mmHg); SN ( $129,1 \pm 3,1$  mmHg) e SC ( $141,6 \pm 8,5$  mmHg).



**Gráfico6 – Medida de pressão arterial caudal realizada ao final do protocolo, com 60 dias de treinamento físico, e mais seis dias de treinamento físico associado a suplementação de nitrito.**

#### 4.4 Concentrações de nitrito plasmático

A análise de concentrações de nitrito, foi realizado no final do protocolo de treinamento e tratamento, após 6 dias de suplementação de nitrito (15mg/Kg de peso corporal). Foi constatado que aumentou estatisticamente os grupos TN ( $4,89 \pm 4,0$ ) vs TC ( $0,26 \pm 0,1$ ); SN ( $4,59 \pm 3,7$ ) e SC ( $0,34 \pm 0,14$ ),



**Figura 2 – Concentração de Nitrito Plasmático realizada após 60 dias de treinamento físico, e mais 6 dias de treinamento físico associado a suplementação de nitrito.**

## 5 DISCUSSÃO

No presente estudo, o desempenho dos animais no teste de capacidade máxima não apresentou mudanças significativas comparando o período pré e pós suplementação, porém houve aumento do desempenho no teste quando observamos o início e final do protocolo experimental, sugerindo que o treinamento físico aeróbio foi eficiente para aumentar os níveis de condicionamento físico dos animais treinados.

Estes resultados corroboram com o estudo de Moreira et al., (2013), no qual avaliaram o desempenho no teste de capacidade máxima após 10 semanas de treinamento aeróbio em meio aquático, com intensidade 50-80%, demonstrando que o grupo treinado apresentou diferenças estatísticas em relação ao grupo sedentário.

Teixeira (2010), avaliou o desempenho dos animais no teste de capacidade máxima após um período de seis semanas de treinamento aeróbio na esteira adaptada, com intensidade de 60% e constatou que o treinamento apresentou diferenças estatísticas em relação ao grupo sedentário tanto na distância final do teste como no tempo total do teste, mostrando que o treinamento foi eficaz em aumentar a capacidade física dos animais.

Fontes et al. (2013), avaliaram o desempenho de ratos induzidos a diabetes no teste de capacidade máxima após oito semanas de treinamento aeróbio em esteira com intensidade de 60% e demonstraram que os animais diabéticos treinados apresentaram o nível da capacidade física elevado comparado aos animais diabéticos sedentários.

Quando o objetivo é associado a capacidade física, podemos perceber que o treinamento físico aeróbio, tanto em esteira como em meio aquático, com intensidade de 60% da capacidade física máxima, é capaz de promover aumento do condicionamento físico animais da linhagem Wistar.

Em relação à VOP, não foram observadas mudanças significativas no momento antes de iniciar o período de suplementação, porém quando observamos o momento no final do protocolo, identificamos reduções significativas no grupo que realizou o treinamento físico associado com a suplementação. Embora somente o exercício não fosse eficaz em reduzir os valores de VOP, o resultado dos animais suplementados era esperado, pois sabendo que o nitrito é um metabólito do NO, que



estimula a via Nitrato/nitrito/NO, maiores concentrações de óxido nítrico poderiam contribuir para uma maior vasodilatação, fazendo assim que ocorra a diminuição da rigidez arterial. Porém ainda pouco se sabe sobre a relação da rigidez arterial e exercício físico em ratos normotensos.

Em humanos, é possível encontrar estudos como o de Ciolac et al. (2006), que avaliaram a VOP em indivíduos sedentários após um período de 16 semanas com treinamento aeróbio contínuo e constatou que após o período de treinamento não houve mudanças significativas em relação ao grupo sedentário.

Quanto à PA caudal, este estudo mostrou que tanto o exercício como a suplementação foi eficaz em reduzir os níveis de PA dos animais. Sabendo que os animais são da linhagem Wistar, este resultado não era esperado. No estudo de Medeiros et al (2000), os animais normotensos foram submetidos à um treinamento físico aeróbio de oito semanas em meio aquático, protocolo de baixa intensidade e alta duração, e foi constatado que o grupo treinado não teve mudanças significativas em relação ao grupo sedentário.

Mota et al. (2014) avaliaram a PA de ratos induzidos a diabetes que foram submetidos ao protocolo de treinamento resistido de oito semanas, a intensidade de 50% de 1RM e constataram que houve redução significativa em relação ao grupo induzido a diabetes sedentário.

Por outro lado, os resultados deste estudo estão de acordo com Souza et al. (2007), que avaliaram a PA em ratos normotensos submetidos a um protocolo de oito semanas de treinamento físico aeróbio em meio aquático, e pode se observar que o exercício físico foi eficaz em reduzir os níveis de PA em relação ao seu grupo controle.

A relação entre exercício físico e redução de níveis de PA em ratos normotensos ainda demonstra controversas na literatura. Mas no presente estudo, os níveis de PA caudal dos animais, devido algum motivo desconhecido, encontrava-se elevado, e isto pode ter relação com o resultado observado.

Em referência às concentrações de nitrito plasmático, esta apresentou mudanças significativas, onde os níveis se encontravam elevados tanto para o grupo que somente foi suplementado, como o grupo que teve o treinamento físico associado com a suplementação. Isto era um resultado esperado, pois como os animais passaram por um período de seis dias de suplementação, os níveis de nitrito plasmático estariam elevados, mas futuras análises devem ser realizadas para

identificar se estes níveis também se encontram elevados em outros tecidos, como os músculos esqueléticos dos animais.

D'Ávila et al. (2008), avaliaram os níveis de nitrato plasmático em ratos normotensos após exercício aeróbio agudo em meio aquático, por um período de 5 minutos com 1% do peso corporal, e foi constatado que os animais que realizaram a sessão de exercício agudo tiveram as concentrações de nitrato plasmático maior do que em relação os animais sedentários.

## **6 CONCLUSÃO**

Em conclusão, os resultados obtidos no presente estudo, sugerem que o treinamento físico aeróbio, quando associado com a suplementação de nitrito é eficiente em promover diversos benefícios cardiovasculares, tais como melhora da rigidez arterial e controle da PA caudal.

## **7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO**

Há algumas limitações em nosso estudo, a PA caudal foi avaliado ao fim do protocolo experimental, não sabendo como se comportaria os valores com uma análise temporal, entre o início e final do protocolo.

Outro fator limitante pode ser a suplementação de nitrito no último dia de protocolo, pois esta suplementação pode ter influenciado nos valores encontrados de nitrito plasmático, de mesmo modo, o número de animais por grupo pode interferir nos resultados, uma vez que um animal do grupo TN foi perdido ao longo do protocolo experimental após a avaliação de velocidade de onda de pulso.

## REFERÊNCIAS

- BLOCH, K. V. et al. ERICA: prevalências de hipertensão arterial e obesidade em adolescentes brasileiros. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, p.1-13, 2016.
- BUDCHEN, D.C.; Schenkel, I.C.; Dos Santos, R.Z.; De Carvalho, T. “Exercício físico controla a pressão arterial e melhora a qualidade de vida”. **Rev. Bras. Med. Esporte**. v. 19. Num. 2. p. 91-95. 2013.
- CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. “Óxido Nítrico: Revisão.” **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p.417-423, 2002.
- CIOLAC.E.G, “Efeito do exercício contínuo versus intervalado sobre pressão arterial, rigidez arterial e qualidade de vida em pacientes hipertensos”, **Dissertação de mestrado em ciências**, 2006.
- D’ÁVILA, V.G.F.C. et al. “Avaliação da produção de óxido nítrico em ratos, submetidos aos exercícios aeróbio e anaeróbio.” **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Vol. 44, n. 4, p.755-760, 2008.
- FABRÍCIO. M. “Novo dispositivo de medida de rigidez arterial - pOpmètri® e suas correlações com análises morfométricas e densidade de colágeno em artérias de ratos de diferentes idades”, **Dissertação de mestrado em ciências fisiológicas**, 2018.
- FONTES, M.T et al. “Treinamento aeróbio previne alterações na vasodilatação dependente do endotélio em ratos diabéticos.”, **Revista de Educação Física/uem**, v. 24, n. 2, p.423-432, 2013.
- 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.
- JEDDI, S. et al. “Efeitos do Consumo de Nitrato na Lesão de Isquemia-Reperusão Miocárdica em Ratos Diabéticos.” **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, São Paulo, v. 107, n. 4, p.339-347, 2016.
- LATERZA, C.M et al. “Exercício físico regular e controle autonômico na hipertensão arterial.” **Revista da SOCERJ**. v. 21, p. 320-328, 2008.
- LIMA, A.A.M, “Risco cardiovascular em Hipertensos”, **Trabalho de conclusão de curso em Farmácia**, 2012.
- MEDEIROS, A et al. “Efeito do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos.” **Revista Paulista de Educação Física**, v. 14, n. 1, p.7-15, 2000.
- MOREIRA, L.L et al. “Treinamento aeróbio contínuo versus treinamento acumulado, uma comparação de seus efeitos e desempenho em modelo animal.” **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v. 9 , n. 56, p.605-616, 2015.
- MOTA, M.M et al. “Exercício Resistido Restaura a Função Endotelial e Reduz a Pressão Arterial de Ratos Diabéticos Tipo 1.” **ArqBrasCardiol**, v. 103, n. 1, p.25-32, 2014.
- NICASTRO, H. “Suco de beterraba concentrado (nitrato) e seus efeitos no exercício de força”, 2016, <http://integralmedica.com.br/posts/suco-de-beterraba-concentrado-nitrato-e-seus-efeitos-no-exercicio-de-forca> , acesso em 11/01/2018.

- OLIVEIRA, C.J; MOREIRA.T.M.M, “Caracterização do tratamento não-farmacológico de idosos portadores de hipertensão arterial”, **Rev. Rene**, v. 11, n. 1, p. 76-85, 2010.
- PIKNOVA, B. et al. “Nitrate as a source of nitrite and nitric oxide during exercise hyperemia in rat skeletal muscle.” **HhsPublic Access**, p.1-18, 2016.
- SOUZA, D.P.*et al.*, “Qualidade de vida em idosos portadores de hipertensão arterial e diabetes mellitus”, **Rev. Psic**, v.10, n. 31, 2016.
- SOUZA, H.C.D et al. “O Bloqueio da Síntese do Óxido Nítrico Promove Aumento da Hipertrofia e da Fibrose Cardíaca em Ratos Submetidos a Treinamento Aeróbio.” **ArqBrasCardiol**, v. 89, n. 2, p.99-104, 2007.
- TEIXEIRA, P.S.A. “Caracterização do treinamento físico experimental de endurance em esteira adaptada através de marcadores metabólicos energéticos.” **Dissertação de mestrado em ciências fisiológicas**, 2010.
- VIEIRA, C.P.B.et al. “Prevalência referida, fatores de risco e controle da hipertensão arterial em idosos.” **CiencCuidSaude**, v. 15, n. 3, p.413-420, set. 2016.
- WILLIAMS, B. “The year in hypertension”. **Journal of the American College of Cardiology**,v. 55, n. 1, p. 66-73, 2010.
- ZAGO, A.S.; KOKUBUN, E.; BROWN, M. D. “Exercício físico como estímulo para o aumento da Produção e Biodisponibilidade do Oxido Nítrico e seu efeito no controle da Pressão Arterial.” **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 13, n. 1, p. 59-66, 2009.
- ZAGO, A.S.; ZANESCO, A. “Óxido Nítrico, Doenças Cardiovasculares e Exercício Físico.” **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, v. 87, n. 6, p.264-270, 2006.

**ANEXO 1 – OFÍCIO DE ACEITE DO COMITÊ DE ÉTICA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JULIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Bauru



Ofício nº 003/2018-CEUA-FC  
xxxx

Bauru, 31 de janeiro de 2018.

**Prezado Senhor,**  
**Prof. Dr. ANDERSON SARANZ ZAGO**  
**Departamento de Educação Física**  
**Faculdade de Ciências de Bauru - UNESP**

Considerando que o Projeto de Pesquisa intitulado "Suplementação de óxido nítrico e exercício físico: Efeito na pressão arterial e rigidez arterial de ratos treinados e não treinados", de responsabilidade de V.Sª, foi aprovado na 12ª Reunião Ordinária da Comissão de Ética no Uso de Animais, solicitamos informações sobre a data de início e término (dia/mês/ano) do referido projeto, para fins de expedição do Certificado.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini**

*Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais*  
*Faculdade de Ciências de Bauru - UNESP*

Thiago Pereira de Souza

---

Thiago Pereira de Souza



---

Prof. Dr. Anderson Saranz Zago