



Assinatura metabólica da responsividade da pressão arterial ao treinamento aeróbio em mulheres hipertensas pós-menopausa

Santos, Marcus Vinícius M. A dos; Castro, Alex; Ferreira, Marina L.V.; Cavaglieri, Claudia R.; Chacon-Mikahil, Mara Patrícia T.

Laboratório de Fisiologia do Exercício- FISEX, Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil

Resumo

A Hipertensão Arterial (HA) é uma doença silenciosa de origem multifatorial, caracterizada por valores de pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg. As mulheres são mais afetadas pela HA, sendo sua incidência aumentada progressivamente com o envelhecimento e o advento da menopausa. As diretrizes internacionais e a brasileira de cuidados primários e secundários da HA, recomendam a adoção de exercícios aeróbios como primeira linha de tratamento não farmacológico. Porém ainda que as recomendações para a prática de exercícios físicos sejam rigorosamente cumpridas, existe uma ampla heterogeneidade de respostas dos marcadores de risco metabólico associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) como a HA. Dessa forma o objetivo desse estudo foi identificar as mudanças no perfil metabólico sérico e vias metabólicas associados às variações nas respostas interindividuais da pressão arterial em mulheres hipertensas em pós-menopausa submetidas a 12 semanas de treinamento aeróbio contínuo (TAC). Dentre os principais achados, reportamos as associações entre as mudanças nos metabólitos séricos e sua relação com as respostas da PAS e PAD ao TAC. Resumidamente observamos em resposta ao TAC: (i) considerável heterogeneidade de respostas interindividuais da PAS e PAD; (ii) níveis séricos distintos do perfil metabólico associados com as respostas da PAS e PAD entre respondedores e não respondedores da PA (RE x NRE); (iii) metabólitos séricos específicos associados com as respostas da PAS e PAD como aspartato, histidina, isoleucina, fenilalanina, treonina, tirosina e valina; (iv) vias associadas com as respostas da PAS e PAD envolvidas no metabolismo de aminoácidos. As mudanças principalmente no metabolismo de aminoácido podem ter desempenhado papel importantíssimo nos mecanismos moleculares capazes de influenciar na biodisponibilidade de NO para o endotélio celular e a biogênese mitocondrial em cardiomiócitos por meio da estimulação da PGC1- α , o que pode ter influenciado de maneira positiva as respostas da PAS e PAD em respondedoras ao TAC. De forma semelhante, o metabolismo de purinas, mais especificamente da hipoxantina, cuja via metabólica está intimamente ligada à biodisponibilidade de NO, foi capaz

de explicar em 58% as mudanças da PAD e 47% das mudanças da PAS.

Palavras chave: Hipertensão; Metabólica; Menopausa; Treinamento Aeróbio; Pressão Arterial.

Abstract

Hypertension (HTN) is a silent disease of multifactorial origin, characterized by systolic blood pressure (SBP) values ≥ 140 mmHg and / or diastolic blood pressure (DBP) ≥ 90 mmHg. Women are more affected by HTN, and its incidence increases progressively with aging and the advent of menopause. The international guidelines and the Brazilian primary and secondary care for HTN recommend the adoption of aerobic exercises as the first line of non-pharmacological treatment. However, although the recommendations for the practice of physical exercises are strictly observed, there is a wide heterogeneity of responses of the metabolic risk markers associated with the development of cardiovascular diseases (CVD) such as AH. Thus, the objective of this study was to identify changes in the serum metabolic profile and metabolic pathways associated with variations in interindividual blood pressure responses in postmenopausal hypertensive women submitted to 12 weeks of continuous aerobic training (CAT). Among the main findings, we report the associations between changes in serum metabolites and their relationship with SBP and DBP responses to TAC. In summary, we observed in response to the TAC: (i) considerable heterogeneity of inter-individual responses from SBP and DBP; (ii) serum levels distinct from the metabolic profile associated with the SBP and DBP responses between BP responders and non-responders (RE x NRE); (iii) specific serum metabolites associated with SBP and DBP responses such as aspartate, histidine, isoleucine, phenylalanine, threonine, tyrosine and valine; (iv) pathways associated with the SBP and DBP responses involved in amino acid metabolism. Changes mainly in amino acid metabolism may have played an important role in the molecular mechanisms capable of influencing the bioavailability of NO for cell endothelium and mitochondrial biogenesis in cardiomyocytes through the stimulation of PGC1- α , which may have positively influenced the responses from SBP and DBP to TAC responders. Similarly, purine metabolism, more



specifically hypoxanthine, whose metabolic pathway is closely linked to the bioavailability of NO, was able to explain 58% of changes in DBP and 47% of changes in SBP.

Keywords: Hypertension; Metabolomic; Menopause; Aerobic Exercise; Blood Pressure.

Introdução

A HA é uma comorbidade cuja prevalência atinge mais de 31,2% da população adulta no mundo. Aproximadamente 45 milhões de pessoas possuem alguma doença cardiovascular (DCV) (32% da população adulta do Brasil). A redução com os custos do tratamento e prevenção da HA são um dos maiores desafios da saúde pública no Brasil, cujo impacto financeiro chegou a atingir o valor de R\$ 56,2 bilhões (US dollar 17,3 bilhões), no ano de 2015 (STEVENS et al., 2018).

Diversos estudos têm demonstrado o papel potencial dos benefícios do exercício físico sobre o sistema cardiovascular afetando o controle da PA, além de sua efetividade no aumento da aptidão cardiorrespiratória e em gerar adaptações fisiológicas que contribuem para a saúde cardiovascular (MEYERS, 2003; ZANESCO, 2009). Porém, nem todos respondem da mesma forma devido a interindividualidade de respostas. Dessa forma, compreender os mecanismos e vias regulatórias das respostas individuais da PA com o TA contribui para o avanço da medicina personalizada, o que futuramente pode atenuar os impactos financeiros e humanos que os eventos cardíacos ocasionados pelo desenvolvimento de DCV trazem para a sociedade.

Objetivos

Identificar as mudanças no perfil metabólico sérico e vias metabólicas associadas às variações nas respostas interindividuais da pressão arterial em mulheres hipertensas em pós-menopausa submetidas a 12 semanas de treinamento aeróbio contínuo.

Métodos

Participaram deste estudo 47 mulheres com idade superior a 40 anos, selecionados a partir de divulgação feita pelo portal da Universidade na internet, além de outros veículos de comunicação. Como critérios iniciais de inclusão, as voluntárias da pesquisa deveriam: ter hábito de vida não-ativo (frequência de atividade física regular menor que duas sessões por semana), serem pré-hipertensas (PAS: 130 a 139 mmHg ou PAD: 85 a 89 mmHg) ou hipertensas grau 1 (PAS: 140 a 149 mmHg ou PAD: 90 a 99 mmHg) e estarem em tratamento medicamentoso para o controle da hipertensão, estar na menopausa (mínimo de 6 meses de interrupção do ciclo menstrual). As voluntárias foram informadas dos possíveis riscos, desconfortos e benefícios do estudo e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido do projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa

(CEP) da Universidade Estadual de Campinas (Parecer: 2.479.380/2018).

Desenho experimental

Todas as voluntárias realizaram uma avaliação clínica composta de eletrocardiograma de repouso e esforço, conduzidos por um médico cardiologista. Não havendo contraindicações, as voluntárias realizaram visitas ao laboratório para avaliações pré-treinamento, estando estas distribuídas ao longo de duas semanas e com intervalos mínimos de 48 horas entre cada avaliação, sempre no mesmo período do dia. As voluntárias foram distribuídas de forma randomizada em grupo treinamento aeróbio contínuo (TAC) e controle (CON) conforme proposto por Castro e colaboradores (2019). Antes e após as 12 semanas de intervenção as coletas de amostras de sangue foram realizadas e armazenadas para posterior análise.

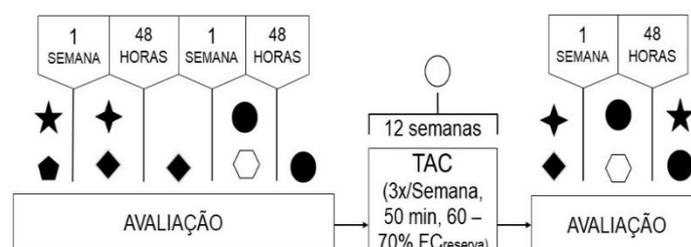


Figura 1. Desenho experimental do estudo. Legenda: Anamnese = ★; Eletrocardiograma (ECG) = ◆; Teste de aptidão cardiorrespiratória = ◆; Coleta de sangue venoso = ◻; Avaliação hemodinâmica = ●; Treinamento aeróbio contínuo (TAC) = ○; Composição corporal = ★; FCreserva = Frequência cardíaca de reserva.

Análise metabólica

A partir das preparações das amostras de soro sanguíneo das voluntárias, nos momentos pré e pós 12 semanas de TAC, realizamos a análise para quantificação dos metabólitos no Laboratório Nacional de Biociências (LNbio - <http://lnbio.cnpem.br/>), utilizando um espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear - RMN Inova Agilent (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA), operando a uma frequência de ressonância de 1H 600 MHz e temperatura constante de 298 K (25 °C). Um total de 256 decaimentos de indução livre (FID) foi realizado. A fase espectral e as correções da linha de base, assim como, a identificação e quantificação dos metabólitos presentes nas amostras, foram realizadas utilizando o software Chenomx Suite RMN 7.6 (Chenomx Inc., Edmonton, AB, Canada), utilizando o sinal do TSP (concentração conhecida) como referência para a quantificação das concentrações dos outros metabólitos. Para inibir qualquer viés tendencioso, as amostras foram perfiladas aleatoriamente de forma cega em relação ao avaliador. O mesmo avaliador realizou a etapa de aquisição, ajuste de linha de base e quantificação, diminuindo o viés subjetivo das análises.



Análise estatística

Inicialmente a normalidade de distribuição dos dados foi verificada através de medidas de obliquidade. Quando medidas de obliquidade padronizadas superiores a 2 ou inferiores a -2 foram observadas, transformações logarítmicas ou potência quadrática foram aplicadas em ordem de atingir uma distribuição Gaussiana.

Para a comparação das variáveis dependentes entre e intra-grupos foram utilizados Modelos Lineares Mistos, assumindo grupo (TAC e CON) e momento (Pré e Pós) como efeitos fixos e participantes como efeito randômico. Adicionalmente, momento foi considerado como efeito de medidas repetidas.

Para determinar os metabólitos alterados associados a PAS e PAD, foram selecionados apenas aqueles suportados por três níveis de evidência (CASTRO et al. 2019): (1) estar associado a alterações na PAS e PAD ($r \geq 0,2$) por meio de teste de correlação de *Pearson*; (2) apresentar diferença entre RE e NRE no teste t de *Student* para variáveis independentes, complementada pelo intervalo de confiança de 95% e tamanho de efeito; e (3) estar presente em pelo menos uma via metabólica associada a alterações na PAS e PAD realizado no teste de super-representação e topologia conforme descrito anteriormente (XIA e WISHART, 2010). Posteriormente, os metabólitos retidos no primeiro nível de evidência da análise foram analisados em modelos de regressão linear múltipla para determinar a variação na resposta da PAS e PAD explicada pelas alterações observadas por cada metabólito. O software utilizado foi o PASW Statistics versão 18.0 (SPSS, Chicago, IL). O nível de significância adotado foi de 1% ou taxa de falsa descoberta de 10%.

Resultados e Discussão

Não foram observadas diferenças significativas nos valores dos marcadores de risco cardiovascular após 12 semanas de TAC comparadas ao momento pré-treinamento. Não houve diferença entre os momentos pré-treinamento e pós-treinamento, nem interação entre os grupos TAC e CON para as medidas de PAS e PAD (Tabela 1).

Tabela 1. Efeitos do programa de treinamento aeróbio (TAC) após 12 semanas em variáveis antropométricas e marcadores bioquímicos das voluntárias estudadas.

Variáveis	TAC (n=37)		CON (n=10)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Massa corporal (kg)	77,6±14	78,7±15,1	80,8±15,6	77,8±15,2
IMC (kg/m ²)	30,66±5,59	30,67±5,64	31,5±4,4	30,9±5,5
Massa gorda (%)	42,5±9,6	42,1±8	46,7±6,4	38,9±17,8
Triglicérides (mg/dL)	134,89±49,2	154,74±65,67	172,8±59,67	158,9±52,06
Colesterol total (mg/dL)	200,63±39,5	219,97±51,79	192,2±27,19	193,2±24,73
HDL (mg/dL)	56,97±15,07	59,34±12,35	48,1±7	48,5±7,09
LDL (mg/dL)	121,77±36,73	132,97±49,83	114,2±24,65	117,4±20,44
Glicemia (mg/dL)	100,54±12,21	101,35±12,42	101,5±12,44	107,2±11,53

HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; TAC: Treinamento aeróbio contínuo; IMC: Índice de massa corporal.

Foram analisados 58 metabólitos séricos. Para o grupo TAC, os níveis de concentração de metabólitos séricos que foram correlacionados em $r \geq 0,2$ com as mudanças na PAS foram hipoxantina, 2-hidroxi-isovalerato, aspartato, acetona e outros apresentados. Em relação a PAD, foram encontradas correlações em $r \geq 0,2$ para hipoxantina, aspartato, 2-hidroxi-isovalerato, fenilalanina, fumarato.

Para mensurar as respostas interindividuais das voluntárias submetidas ao TAC, utilizamos o erro típico de medida (ETM) proposto por Bouchard e colaboradores (2012) para dividir a amostra em respondedores (RE) e não respondedores (NRE). O grupo RE apresentou maior redução para PAS e PAD comparado com NRE (Figura 2).

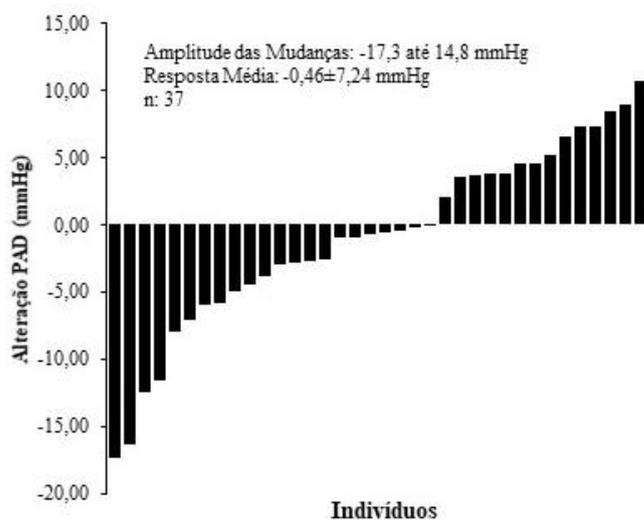
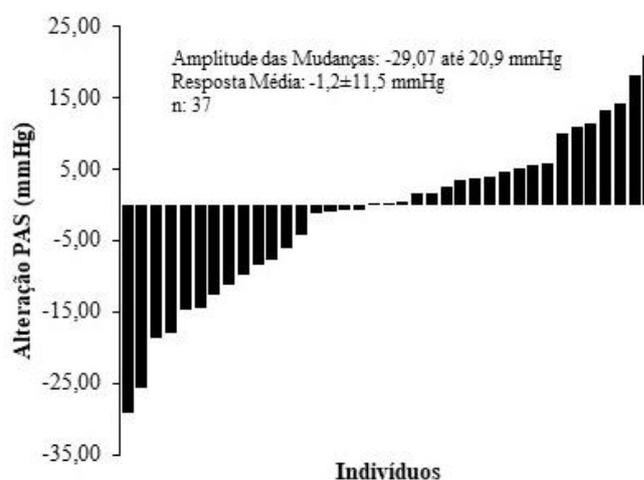


Figura 2. Heterogeneidade de respostas individuais da PAS e PAD ao TAC. PAD: Pressão arterial diastólica; PAS: Pressão arterial sistólica; TAC: Treinamento aeróbio contínuo. As voluntárias foram estratificadas em respondedoras e não respondedoras ao TAC para a PAS e PAD, o parâmetro adotado foi o ETM, para a PAS, 11 voluntárias foram consideradas respondedoras ao TAC e para PAD, 9 voluntárias foram consideradas respondedoras ao TAC.



Os RE apresentaram aumento nas concentrações de 3-hidroxiacetona (r = -0,387), acetona (r = -0,430), aspartato (r = -0,305), fenilalanina (r = -0,335) e hipoxantina (r = -0,469), comparados aos NRE. Para a PAD, concentrações mais elevadas foram observadas em RE para 3-hidroxiacetona (r = -0,450), acetona (r = -0,450), aspartato (r = -0,408), fenilalanina (r = -0,434), histidina (r = -0,411), hipoxantina (r = -0,512), isoleucina (r = -0,350), treonina (r = -0,338), tirosina (r = -0,320), valina (r = -0,357) (Figura3).

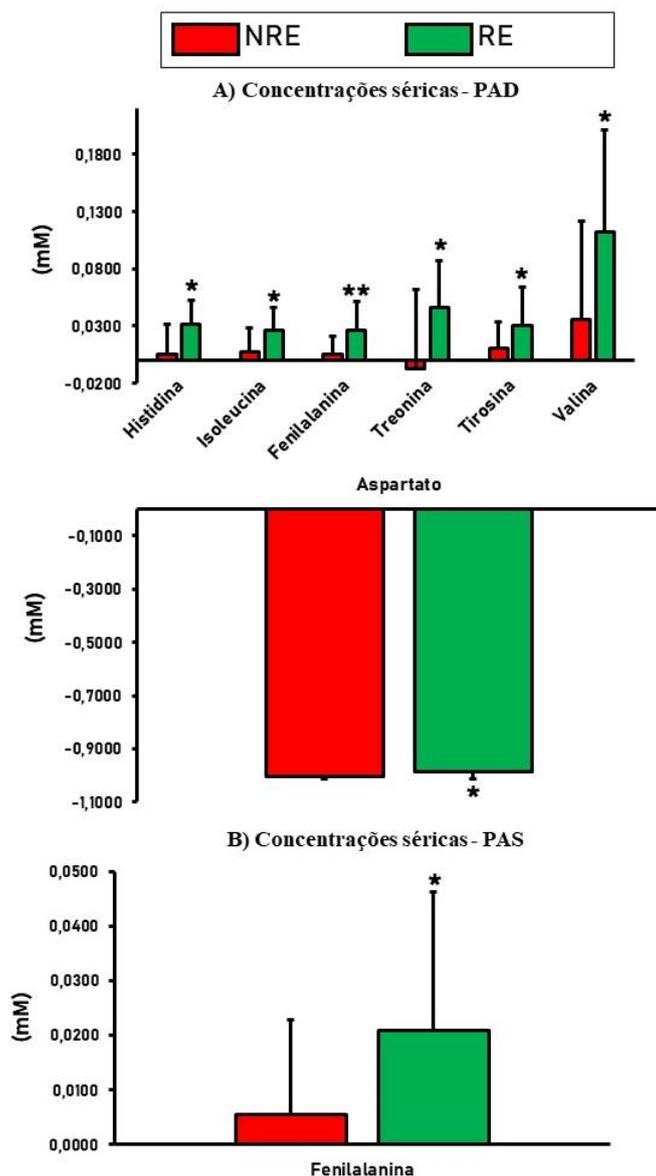


Figura 3. Diferenças das concentrações séricas dos metabólitos entre RE e NRE da PAS e PAD após 12 semanas de TAC. Legenda: PAD: Pressão arterial diastólica; PAS: Pressão arterial sistólica; NRE: Não respondedor; RE: Respondedor; TAC: Treinamento aeróbio contínuo. A) Histidina, isoleucina, fenilalanina, treonina, tirosina, valina e aspartato apresentaram maiores concentrações séricas em RE ao TAC em comparação com NRE para as respostas da PAD; B) Fenilalanina apresentou maiores concentrações séricas em RE ao TAC em comparação com NRE para as respostas da PAS. * P < 0,05; **P < 0,01.

Foram analisados separadamente 22 metabólitos para PAS e 45 metabólitos para PAD o teste para análise de super-representação e o teste para análise de tipologia de vias para explorar o enriquecimento de vias (XIA e WISHART, 2010) foi utilizado. Observamos 9 vias significativas relacionadas com as mudanças na PAS e 15 vias significativas relacionados com as mudanças na PAD para o programa de TAC. Cinco estão associadas com as mudanças nas medidas de PAS e PAD para o TAC, incluindo os metabólitos suportados pelos três níveis de evidência, como a: biossíntese de aminocil-RNAt, biossíntese de valina, leucina e isoleucina, metabolismo da glicina, serina e treonina, biossíntese de arginina, degradação de valina, leucina e isoleucina.

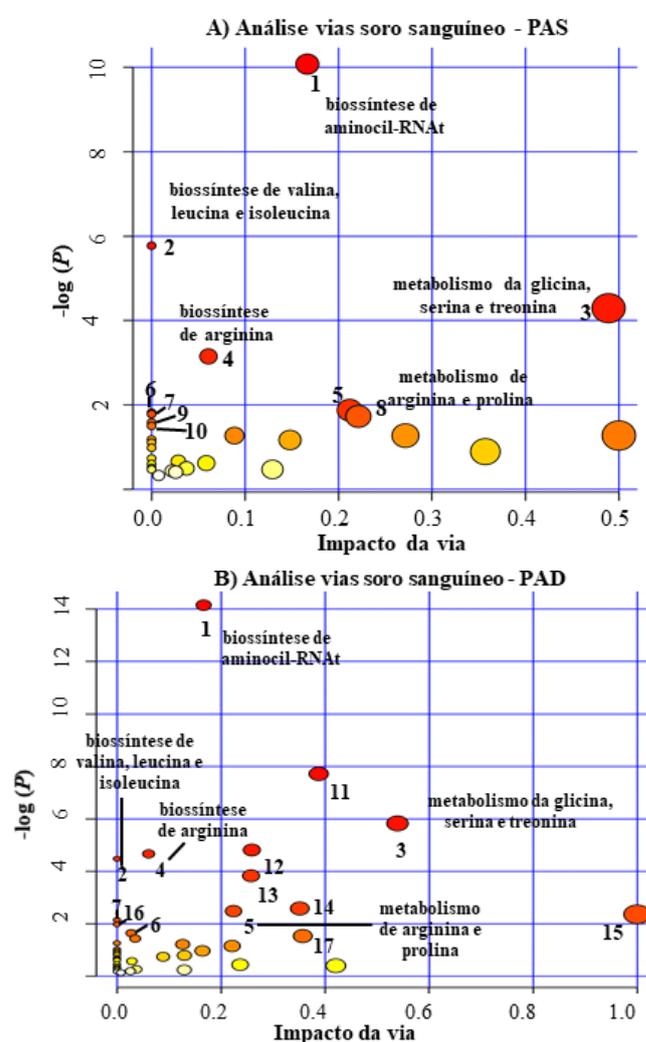


Figura 4. Síntese das vias séricas pré-treinamento sugeridas para serem relacionadas com as mudanças da PAS (A) e PAD (B) ocasionadas pelo programa TAC que atingiram correlação $r \geq 0,2$. Os números dentro do painel de figuras referem-se às vias que mais se relacionaram.

Nesse estudo, reportamos as associações entre as mudanças nos metabólitos séricos e sua relação com as respostas da PAS e PAD ao programa de TAC. Nossas descobertas podem ser resumidas da seguinte forma: (i)



considerável heterogeneidade de respostas interindividuais da PAS e PAD ao TAC; (ii) níveis séricos distintos do perfil metabólico associados com as respostas da PAS e PAD entre respondedores e não respondedores (RE x NRE); (iii) metabólitos séricos específicos associados com as respostas da PAS e PAD como aspartato, histidina, isoleucina, fenilalanina, treonina, tirosina e valina; (iv) vias associadas com as respostas da PAS e PAD envolvidas no metabolismo de aminoácidos.

Conclusões

As mudanças principalmente no metabolismo de aminoácido podem ter desempenhado papel importantíssimo nos mecanismos moleculares capazes de influenciar na biodisponibilidade de NO para o endotélio celular e a biogênese mitocondrial em cardiomiócitos por meio da estimulação da PGC1- α , o que pode ter influenciado de maneira positiva as respostas da PAS e PAD em voluntárias RE ao TAC. De forma semelhante, o metabolismo de purinas, mais especificamente da hipoxantina, cuja via metabólica está intimamente ligada à biodisponibilidade de NO, foi capaz de explicar em 58% as mudanças da PAD e 47% das mudanças da PAS. Esses resultados oferecem novas perspectivas para investigações futuras sobre os mecanismos que influenciam os fatores determinantes para as mudanças na PAS e PAD.

Referências

- BOUCHARD, Claude et al. Adverse metabolic response to regular exercise: is it a rare or common occurrence?. **PloS one**, v. 7, n. 5, p. e37887, 2012
- CASTRO, Alex et al. Association of skeletal muscle and serum metabolites with maximum power output gains in response to continuous endurance or high-intensity interval training programs: The TIMES study—A randomized controlled trial. **PloS one**, v. 14, n. 2, p. e0212115, 2019. MYERS, Jonathan. Exercise and cardiovascular health. **Circulation**, v. 107, n. 1, p. e2-e5, 2003.
- STEVENS, Bryce et al. The Economic Burden of Heart Conditions in Brazil. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 111, n. 1, p. 29-36, 2018.
- XIA, Jianguo; WISHART, David S. MetPA: a web-based metabolomics tool for pathway analysis and visualization. **Bioinformatics**, v. 26, n. 18, p. 2342-2344, 2010.
- ZANESCO, Angelina; ZAROS, Pedro Renato. Physical exercise and menopause. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria**, v. 31, n. 5, p. 254-261, 2009.

Nota dos autores

Santos, M.V.M.A., aluno de Iniciação Científica, PIBIC-CNPq, é Bacharel e graduando em Licenciatura pela Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas
Contato

Castro, A. é Doutor em Educação Física FEF, e Pesquisador Colaborador do FISEX-FEF- UNICAMP, Campinas

Ferreira, M.L.V. é Doutoranda em Educação Física FEF, UNICAMP, Campinas

Cavagliari, C. R. é Professora Livre Docente do Departamento de Estudos da Atividade Física Adaptada e Pesquisadora do Fisex-FEF-Unicamp, da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas. Bolsista Produtividade em Pesquisa CNPq.

Chacon-Mikahil, M.P.T. Professora Livre Docente do Departamento de Estudos da Atividade Física Adaptada e Pesquisadora do Fisex-FEF-Unicamp, da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas. Bolsista Produtividade em Pesquisa CNPq, Orientadora do presente trabalho de IC.

Marcus Vinicius Mattos Abreu dos Santos
E-mail: marcusvinmattos@hotmail.com

Suportes

CNPq, PIBIC-CNPq, CAPES, FAEPEX-UNICAMP.
Agradecimento ao Fisex e LabFEF.

