



ASSINATURA METABÓLICA DA RESPONSIVIDADE DA APTIDÃO CARDIORRESPIRATÓRIA AO TREINAMENTO AERÓBIO EM MULHERES HIPERTENSAS

Da Silva, L.W.P.; Ferreira, M.L.V.; Castro, A.; Cavaglieri, R.C.;
Chacon-Mikahil, M.P.T.

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

RESUMO

Baixos níveis de aptidão cardiorrespiratória (ACR) podem contribuir para o desenvolvimento de fatores de risco e doenças cardiovasculares (DCV). Neste sentido, o treinamento aeróbio é proposto como alternativa para melhorar os níveis de ACR e a saúde. Contudo, mesmo em indivíduos com características fenotípicas similares, as respostas da ACR ao treinamento aeróbio padronizado são amplamente heterogêneas, e os mecanismos moleculares envolvidos ainda pouco conhecidos. Portanto, o objetivo desse estudo foi investigar o perfil metabólico sérico e suas associações com ganhos de VO₂máx em resposta a 12 semanas de treinamento aeróbio contínuo (TAC), em mulheres hipertensas na pós menopausa (n=45). As voluntárias foram randomizadas em 2 grupos: Treino (TAC, n = 35) e controle (CO, n = 10). No grupo CO, as participantes foram convidadas a não se exercitar por 12 semanas. Amostras de soro sanguíneo foram analisadas por espectroscopia de RMN, Pré e Pós 12 semanas. As análises renderam 58 metabólitos séricos detectáveis e foi possível observar as associações do nível basal com as mudanças nos valores de VO₂máx, que por sua vez foram exploradas por meio de três estratégias analíticas: (1) correlações com os ganhos no VO₂máx (r>0,2); (2) diferenças entre respondedores e não respondedores ao TAC e (3) contribuições de metabólitos para as vias significativas relacionadas aos ganhos no VO₂máx. O nível de significância foi estabelecido por P <0,01 ou taxa de falsa descoberta de 0,1. Os metabólitos basais associados ao VO₂máx suportados pelos três níveis de evidência foram: 3-hidroxi butirato, alanina, leucina, isoleucina, fenilalanina e succinato. Sugerindo que as vias mais comuns salientadas pelos perfis metabólicos estão potencialmente associados ao metabolismo de aminoácidos e carboidratos além de processos de transporte de RNA.

Palavras-chave: Hipertensão; Aptidão Cardiorrespiratória; VO₂máx; Biomarcadores; Responsividade; Metabólica;

ABSTRACT

Low levels of Cardiorespiratory Fitness (CRF) can contribute to the development of cardiovascular diseases (CVD). In this sense aerobic training is proposed as an alternative to increase CRF levels and health. However, even in individuals with similar phenotypic characteristics, CRF responses to standardized aerobic training are widely heterogenic and the molecular mechanisms are still poorly known. Therefore, this study investigated the serum metabolic profile and its associations with VO₂max gains in response to 12 weeks of continuous aerobic training (TAC) in post-menopausal hypertensive women (n = 45). The volunteers were randomized into 2 groups: Training (TAC, n = 35) and control (CO, n = 10). In the CO group, participants were asked to do not exercise for 12 weeks. Blood serum samples were analyzed by NMR spectroscopy. The analyzes found out 58 detectable serum metabolites and it was possible to observe the associations of the baseline level with changes in VO₂max values, which were explored through three analytical strategies: (1) correlations with the gains in VO₂max (r > 0.2); (2) differences between responders and non-responders to the TAC and (3) contributions of metabolites to the most significant pathways related to gains in VO₂max. The significance level was established by P <0.01 or false discovery rate of 0.1. The basal metabolites associated with VO₂max supported by the three levels of evidence were: 3-hydroxybutyrate, alanine, leucine, isoleucine, phenylalanine and succinate. Suggesting that the most common pathways highlighted by metabolic profiles are potentially associated with the metabolism of amino acids and carbohydrates and in addition, RNA transport processes.

Key-Words: Hypertension; Cardiorespiratory Fitness; VO₂max; Metabolomics; Biomarkers; Responsiveness

Introdução



Hábitos de vida sedentários refletem diretamente nos níveis de ACR, capacidade física e funcional de um indivíduo, podendo levar assim ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV), que é acelerado por vários fatores de risco, um dos mais importantes é a hipertensão arterial.

A aquisição de melhoria dos níveis de ACR está associada ao treinamento aeróbio (TA). Contudo, sabe-se que existe uma ampla variação da resposta interindividual da ACR frente ao TA, variando de indivíduos que melhoram muito suas capacidades, e outros que apresentam pouca ou nenhuma melhora. Um dos meios de mensuramos a ACR de um indivíduo é através dos valores de consumo de oxigênio máximos ($VO_{2máx}$) que caracterizam o padrão ouro para avaliação da ACR de um indivíduo.

Assim, uma vez que os níveis individuais de ACR influenciam diretamente na redução do risco de DCV, torna-se evidente que este padrão de “não-resposta ao exercício físico é algo a ser levado em consideração na prescrição de protocolos de treinamento.

Com o intuito de compreender mais profundamente acerca dos mecanismos celulares e alterações metabólicas adjacentes da adaptação do corpo ao exercício aeróbico, a metabolômica surge como uma emergente tecnologia das ciências ômicas que vem sendo utilizada por alguns estudos para interpretar as respostas interindividuais ao exercício, oferecendo uma abordagem mais ampla e assim, possibilitando analisar simultaneamente uma alta gama de metabólitos, de modo a facilitar sua identificação, quantificação e caracterização

Desta forma, a metabolômica se mostra como uma técnica de análise que possui alta reprodutibilidade metodológica, expressando dados muito confiáveis, permitindo nortear o padrão de resposta de um indivíduo através de seu perfil metabólico, além de explicar boa parte das questões relacionadas à variabilidade interindividual

Portanto, saber identificar nos níveis do metabolismo basal, os metabólitos que explicam as mudanças na ACR de um indivíduo, evidencia a importância do uso da metabolômica como uma ferramenta de análise para criar uma assinatura metabólica da responsividade ao TAC, em particular para o grupo utilizado para o desenvolvimento desse estudo (mulheres hipertensas na pós menopausa), uma vez que os mecanismos moleculares associados a resposta ao TAC nessa população é um assunto pouco explorado pelas ciências da saúde e do exercício.

Objetivos

Identificar as mudanças no perfil metabólico e vias metabólicas associados às variações nas respostas interindividuais da ACR ao treinamento aeróbio contínuo em mulheres hipertensas menopausadas.

Métodos

Participaram do estudo 90 mulheres, com idade superior a 40 anos, Como critérios de inclusão para os participantes era necessário: ter hábito de vida não-ativo (frequência de atividade física regular menor que duas sessões por semana), serem hipertensos grau 1 (PA sistólica:140 à 149 mmHg ou PA diastólica:90 à 99 mmHg) ou 2 (PA sistólica:160 à 169 mmHg ou PA diastólica:100 à 109 mmHg) e 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 um termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (CEP nº 2.459.315).

As voluntárias foram inicialmente divididas de forma randomizada, em dois diferentes grupos de treinamento, sendo este realizado três vezes por semana durante 12 semanas:

- Treinamento aeróbio contínuo (TAC): 50 minutos de exercício aeróbio contínuo realizado em bicicleta ergométrica, com velocidade correspondente a 60% da FC. reserva obtido no teste ergoespirométrico;
- Grupo Controle (CON): Ausência de treinamento físico.

Em todas as sessões de treinamento, a frequência cardíaca (FC) e a percepção subjetiva de esforço (BORG) foram monitoradas a cada 5 min para controlar a intensidade ao treinamento.

As coletas foram feitas no momento pré e pós 12 semanas de TAC. Após a preparação das amostras foram obtidos os espectros de RMN no Laboratório Nacional de Biociências (LNbio - <http://lnbio.cnpem.br/>), utilizando um espectrômetro de RMN. A fase espectral e as correções de base, assim como, a identificação e quantificação dos metabólitos, foram adquiridas através do software Suite 8.4 Chenomx RMN.



Por fim, para determinação dos metabólitos candidatos a biomarcadores preditores da treinabilidade da ACR, foram selecionados somente os metabólitos suportados por três níveis de evidência: (1) possuir associação significativa ($r \geq 0,2$) com as mudanças na ACR; (2) apresentar diferença entre RE e NRE; e (3) contribuição em vias metabólicas significativas associadas às mudanças na ACR, foi utilizada taxa de falsa descoberta de 1%.

Resultados e Discussão

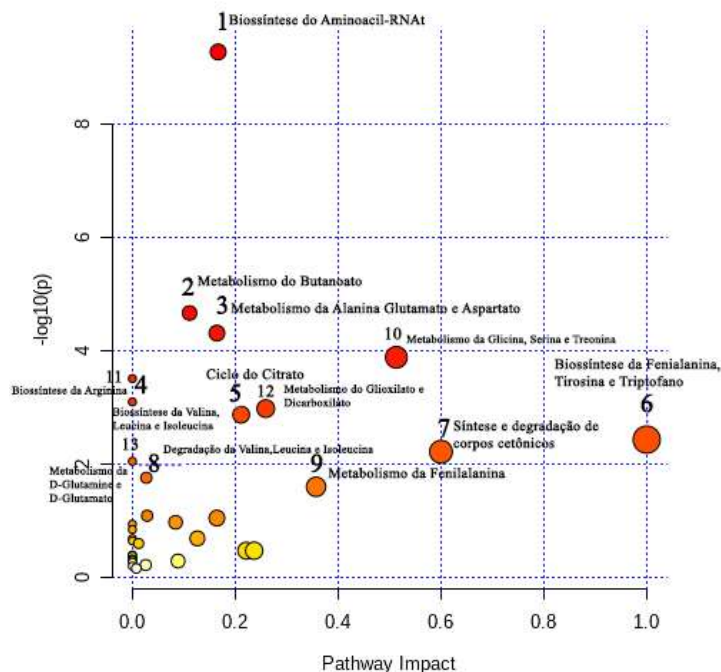
Não houve diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$) TAC e CON quanto as características da amostra. As correlações entre as mudanças na ACR individual após a intervenção com TAC, comparadas as características basais, mostraram que não houve correlação significativa ($P > 0,05$) com os dados de caracterização da amostra.

Os seguintes metabólitos apresentaram $r > 0,2$, com o $\Delta VO_{2\text{máx}}$: Etanol ($p = -0,204$), Isopropanol ($p = -0,303$), Hipoxantina ($p = 0,217$), Colina ($p = 0,221$), N-Metil-hidantoína ($p = -0,267$), Dimetilsulfona ($p = 0,222$), Ascorbato ($p = -0,256$) e Guanidoacetato ($p = 0,502$).

Os grupos RE e NRE foram comparados quanto as diferenças de concentração basal e com exceção do 3-Hidroxiacetato e O-Acetilcarnitina que maiores no grupo RE os seguintes metabólitos séricos apresentaram diferença significativa: 3-Hidroxiacetato, 3-Hidroxiisobutirato, 3-Hidroxiisovalerato, Alanina, Glicerol, Isoleucina, Lactato, Leucina, Metanol, Metilamina, O-Acetilcarnitina, Ornitina, Fenilalanina, Piruvato, Succinato, Valina, Mio-Inositol.

Das 35 vias observadas incluindo estes metabólitos, 13 aparentaram estar relacionadas com os ganhos no $VO_{2\text{máx}}$ (Figura 1). Dessas 13 vias, 9 por sua vez apareceram nos três níveis de evidência junto a 6 metabólitos: 3-Hidroxiacetato; Alanina; Isoleucina; Leucina; Fenilalanina; Succinato.

Para mulheres sedentárias, hipertensas e na pós menopausa, o TAC possui capacidade de promover melhorias significativas ao $VO_{2\text{máx}}$ e capacidade de exercício. Adicionalmente, observou-se que a resposta interindividual ao $VO_{2\text{máx}}$ está associada com metabólitos séricos basais sugerindo o envolvimento no metabolismo de aminoácidos, processos translacionais, e metabolismo de carboidratos (3-Hidroxiacetato; Alanina; Isoleucina; Leucina; Fenilalanina; Succinato).



Referências

- BOUCHARD, C. et al. Adverse metabolic response to regular exercise: is it a rare or common occurrence? *PLoS One*, v. 7, n. 5, p. e37887, 2012. ISSN 1932-6203.
- BYE, A. et al. Serum levels of choline-containing compounds are associated with aerobic fitness level: the HUNT-study. *PLoS One*, v. 7, n. 7, p. e42330, 2012. ISSN 1932-6203.
- 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.
- CHORELL, E. et al. Physical fitness level is reflected by alterations in the human plasma metabolome. *Mol Biosyst*, v. 8, n. 4, p. 1187-96, Apr 2012. ISSN 1742-2051.
- DE OLIVEIRA, Gláucia Maria Moraes et al. 2017 Guidelines for the management of arterial hypertension in primary health care in Portuguese-speaking countries. **Revista Portuguesa de Cardiologia (English Edition)**, v. 36, n. 11, p. 789-798, 2017.
- GHOSH, S. et al. Integrative pathway analysis of a genome-wide association study of ($VO_{2\text{max}}$) response to exercise training. *J Appl Physiol* (1985), v. 115, n. 9, p. 1343-59, Nov 2013. ISSN 1522-1601.
- HEANEY, Liam M.; DEIGHTON, Kevin; SUZUKI, Toru. Non-targeted metabolomics in sport and exercise science. **Journal of sports sciences**, v. 37, n. 9, p. 959-967, 2019.2019.
- KIM, You Jin et al. Integration of traditional and metabolomics biomarkers identifies prognostic metabolites for predicting responsiveness to nutritional intervention against oxidative stress and inflammation. **Nutrients**, v. 9, n. 3, p. 233, 2017. approach. **Metabolites**, v. 9, n. 7, p. 137, 2017.
- KISTNER, Sina et al. High-intensity interval training decreases resting urinary hypoxanthine concentration in young active men—a metabolomic approach. **Metabolites**, v. 9, n. 7, p. 137, 2019.



LIN, Yi-Yuan; LEE, Shin-Da. Cardiovascular benefits of exercise training in postmenopausal hypertension. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 9, p. 2523, 2018.

LUSTGARTEN, M. S. et al. Identification of serum analytes and metabolites associated with aerobic capacity. *Eur J Appl Physiol*, v. 113, n. 5, p. 1311-20, May 2013. ISSN 1439-6327.

MALACHIAS, Marcus Vinicius Bolivar. 7th Brazilian guideline of arterial hypertension: presentation. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 107, n. 3, p. XV-XIX, 2016.

MANN, Theresa N.; LAMBERTS, Robert P.; LAMBERT, Michael I. High responders and low responders: factors associated with individual variation in response to standardized training. **Sports Medicine**, v. 44, n. 8, p. 1113-1124, 2014 PEGOS, Vanessa R. et al. Xanthan Gum Removal for ¹H-NMR Analysis of the Intracellular Metabolome of the Bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. citri 306. **Metabolites**, v. 4, n. 2, p. 218-231, 2014.

ROSS, Robert; DE LANNOY, Louise; STOTZ, Paula J. Separate effects of intensity and amount of exercise on interindividual cardiorespiratory fitness response. In: *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier, 2015. p. 1506-1514

ROSS, Robert et al. Precision exercise medicine: understanding exercise response variability. **Br J Sports Med**, p. bjsports-2018-100328, 2019.

SARZYNSKI, M. A.; GHOSH, S.; BOUCHARD, C. Genomic and transcriptomic predictors of response levels to endurance exercise training. *J Physiol*, May 2016. ISSN 1469-7793.

TZOULAKI, Ioanna et al. An overview of metabolic phenotyping in blood pressure research. **Current Hypertension Reports**, v. 20, n. 9, p. 78, 2018.

TIMMONS, J. A. et al. Using molecular classification to predict gains in maximal aerobic capacity following endurance exercise training in humans. *J Appl Physiol* (1985), v. 108, n. 6, p. 1487-96, Jun 2010. ISSN 1522-1601

Apoio

- Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC);
- Laboratório de Fisiologia do Exercício (Fisex);
- Laboratório integrado LABFEF;
- Faculdade de Educação Física (FEF) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Agradecimentos

À minha orientadora Prof. Dra. Mara Patrícia Traina Chacon-Mikahil e meus co-orientadores Dr. Alex Castro e DDa. Marina Livia Venturini Ferreira, ao Laboratório de Fisiologia do Exercício (FISEX), à Faculdade de Educação Física (FEF – UNICAMP), ao Órgão de fomento CNPq (PIBIC), ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e materiais (CNPEM) e o Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), à minha família, aos companheiros e colegas de laboratório, e aos amigos.

Link do Vídeo do Youtube:

<https://youtu.be/cBSHp6GPohM>

