

ESTUDO DO ÓXIDO NÍTRICO ENDOTELIAL, POR MEIO DA SALIVA, EM PRATICANTES DE DIFERENTES MODALIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICONestor Persio Alvim Agrícola¹, Marcos Gonçalves Santana¹**RESUMO**

No presente estudo foram avaliados dois parâmetros: o óxido nítrico (NO) endotelial, expresso na saliva como nitrito, e a intensidade do treinamento, pela frequência cardíaca. As modalidades de exercício físico estudadas foram: jump, musculação, crossfit, hidroginástica, pilates e spinning. Todos os dados foram comparados a uma condição controle. O objetivo foi analisar o comportamento do NO em diferentes modalidades de exercício físico. A produção de NO responde ao estímulo do exercício e se expressa na saliva, como verificado no teste de medidas repetidas de comparação entre as quatro coletas de amostras (p-valor 0,027) e na comparação com o grupo controle (p-valor 0,0032). As modalidades de exercício mais intensos apresentam maior expressão de NO pós exercício. Contudo a expressão não é duradoura, retornando a valores basais 30 minutos após o treino. O óxido nítrico sintetizado varia conforme a intensidade do exercício, ou seja, conforme o maior fluxo sanguíneo. Algumas formas de exercício menos intensas não são capazes de potencializar a produção de NO endotelial, é necessária uma intensidade mínima que irá ativar a eNOS e todo o ciclo de produção do óxido nítrico.

Palavras-chave: Óxido nítrico. Esforço físico. Intensidade. Saúde.

ABSTRACT

Study of endothelial nitric oxide, through saliva, in practitioners of different modalities of physical exercise

In the present study, two parameters were evaluated: endothelial nitric oxide (NO), expressed in saliva as nitrite, and training intensity, by heart rate. The physical exercise modalities studied were: jump, weight training, crossfit, water aerobics, pilates and spinning. All data were compared to a control condition. The objective was to analyze the behavior of NO in different modalities of physical exercise. NO production responds to the exercise stimulus and is expressed in saliva, as verified in the repeated measures test comparing the four sample collections (p-value 0.027) and in the comparison with the control group (p-value 0.0032). The most intense exercise modalities present higher expression of post-exercise NO. However, the expression is not lasting, returning to baseline values 30 minutes after training. The nitric oxide synthesized varies according to the intensity of the exercise, that is, according to the greater blood flow. Some less intense forms of exercise are not able to potentiate the production of endothelial NO, a minimum intensity is required that will activate eNOS and the entire cycle of nitric oxide production.

Key words: Nitric oxide. Physical exertion. Intensity. Health.

1 - Universidade Federal de Jataí GO, Instituto de Ciências da Saúde, Jataí-GO, Brasil.

E-mail dos autores:
nestoralvim@ufj.edu.br
santanamg@ufj.edu.br

Autor correspondente:
Nestor Persio Alvim Agrícola.
nestoralvim@ufj.edu.br
Universidade Federal de Jataí-GO
Câmpus Jatobá, Cidade universitária.
BR 364, km 195, nº 3800.
CEP 75801-615.

INTRODUÇÃO

O óxido nítrico (NO) é uma molécula inorgânica, gasosa, altamente reativa devido à sua valência livre que se combina facilmente ao oxigênio e com alguns metais de transição (Cerqueira, Yoshida, 2002).

Sua forte reatividade com o ferro ocasiona a ligação do NO com as metaloproteínas, entre elas a hemoglobina (Dusse, Vieira, Carvalho, 2003).

A ação do NO não é completamente conhecida ainda, é um mediador citotóxico de células imunes, precursor de nitritos e nitratos excretados pelos macrófagos em respostas imunológicas específicas (Snyders, Bredt, 1992).

O potencial citotóxico é oportuno na medida em que é produzido em quantidades significativas durante a resposta imunológica e provoca danos oxidativos letais às células-alvo (Barreto, Correia, 2005).

É a primeira linha de defesa do organismo, nessa função atua em concentrações muito maiores que a de mensageiro.

Além de atuar de forma direta na vasodilatação, ainda possui a propriedade de inibição da agregação plaquetária, prevenindo a formação de trombos. Inibe também a adesão plaquetária e leucocitária na parede dos vasos (Flora Filho, Zilberstein, 2000).

A quantidade de seções semanais de exercício, o tempo de exercício e a intensidade com que é realizado interferem nos efeitos hipotensores (Hamer, 2006).

A diminuição da pressão arterial produzida pelo exercício diz respeito, tanto ao efeito hipotensor pós exercício, que perdura pelo tempo de recuperação, quanto pelo efeito anti-hipertensivo duradouro, que se verifica em indivíduos treinados (Brum e colaboradores, 2000).

Verifica-se, no entanto, que o efeito de controle da pressão arterial ocorre mais acentuadamente quando o exercício é de intensidade moderada, em torno de 50 a 65% da intensidade máxima (Forjaz e colaboradores, 1998).

A medição da concentração dos níveis de óxido nítrico raramente se dá pela detecção do gás propriamente dito, devido ao seu curto período de meia vida.

Alguns resultados parecem apontar conclusões seguras, tais como: os exercícios moderados, abaixo do limiar anaeróbico,

realizados por volta de 70% da capacidade máxima de esforço, tem melhores resultados na produção de NO e conseqüentemente nos efeitos que este composto pode proporcionar.

Isto porque o esforço mais elevado gera produção elevada de espécies reativas do oxigênio que caracterizam o estresse oxidativo, com efeitos antagônicos aos apontados por concentrações ótimas de NO.

As atividades físicas que envolvem grandes grupamentos musculares, como caminhadas, corridas e natação, também se destacam em relação a exercícios mais localizados.

Isso devido ao aumento da frequência cardíaca, do volume sistólico e do débito cardíaco que em atividades desse tipo são mais pronunciados (Brandão, Martins-Pinge, 2007).

Estudos recentes têm apontado o NO como importante fator regulador das dislipidemias uma vez que o aumento do fluxo sanguíneo e a conseqüente maior produção de NO pelo endotélio ajudam a regular os níveis de LDL e HDL colesterol (Drexler, 1999; Kingwell, 2000).

A maior produção de NO em exercício físico, decorrente de aumento no shear stress foi verificada tanto em indivíduos normotensos quanto hipertensos e por isso o exercício é apontado como restaurador da função endotelial em casos de disfunção associadas a doenças cardiovasculares (Zago, Zanesco, 2006).

O óxido nítrico é um mediador da microcirculação local do miócito, atuando no fornecimento de energia do músculo esquelético através da modulação hormonal, principalmente do hormônio GH.

Segundo estudo recente, o NO atua na ativação da biogênese mitocondrial do músculo esquelético, melhorando a respiração do miócito. Interfere diretamente no abastecimento de nutrientes e oxigênio do miócito através da regulação do fluxo sanguíneo.

A exposição de longo prazo ao NO, por células musculares, desencadeia a biogênese mitocondrial envolvendo a ativação da GMPc (Dyakova e colaboradores, 2015).

Outros estudos vêm apontar a relação do exercício físico com doenças como Parkinson e Alzheimer mediadas pela produção de NO no organismo (Paillard, Rolland, Barreto, 2015).

O exercício físico de caráter aeróbico ativa a liberação de fatores neutróficos e promove a angiogênese, facilitando a

neurogênese e a sinaptogenese que por sua vez melhoram as funções cognitivas.

Os estudos citados acima demonstraram que os mecanismos protetores induzidos pelo exercício estão ligados a um aumento da síntese endotelial de NO e ainda um aumento do fator de crescimento endotelial vascular.

Outros estudos afirmam sobre a produção de NO eritrocitário, com efeitos análogos ao NO endotelial, porém indicando a presença da NO sintase no interior da hemácia (Medeiros Lima e colaboradores, 2014; Baskurt, Ulker, Meiselman, 2011).

NO salivar e exercício

A saliva tem sido muito utilizada na quantificação do óxido nítrico principalmente em estudos da cavidade oral, relacionados a doenças periodontais, implantes dentários, carcinomas, etc. principalmente devido à facilidade que a técnica oferece.

A saliva pode ser coletada por pessoal não especializado por não ser um processo invasivo, e a técnica de quantificação colorimétrica de nitrito usando o reagente de Griess é relativamente rápida e de custo não tão elevado, possibilitando a testagem de uma variedade de hipóteses.

No campo da atividade física, a saliva tem sido utilizada na busca de se estabelecer um protocolo seguro e confiável para a testagem de respostas fisiológicas do organismo ao esforço e à definição de parâmetros de controle do exercício que sejam não invasivos (Zuardi, 2012).

A saliva é produzida pelas glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais, todas bilaterais.

Além dessas, a saliva também é produzida por glândulas microscópicas localizadas nas regiões labial, lingual, palatina e retromolar.

Em conjunto essas glândulas produzem a saliva total na cavidade oral. A salivação é regulada por estímulos nervosos, principalmente sinais parassimpáticos.

A estimulação simpática diminui a atividade glandular e o volume salivar. Outro fator que afeta a salivação é o suprimento de sangue nas glândulas salivares. Os sinais parassimpáticos que induzem a salivação atuam também na vasodilatação da região glandular. É composta basicamente de água, moléculas orgânicas e eletrólitos.

A porção aquosa da saliva é proveniente da irrigação capilar local, passando da corrente sanguínea para as células secretoras por difusão (Zuardi, 2012).

O óxido nítrico se apresenta na saliva basicamente em duas formas: sob a forma de gás produzido pelas células de defesa (como neutrófilos, macrófagos e plaquetas) contra bactérias e processos inflamatórios presentes na boca, e sob a forma líquida, convertida e estável de nitrito proveniente da redução de nitratos e da oxidação do próprio gás óxido nítrico.

Tem sido demonstrado também que os nitritos podem vir da corrente sanguínea juntamente com o componente aquoso do sangue que chega às células secretoras das glândulas salivares, expressando assim, na saliva, as variações que este metabólito teria na corrente sanguínea (Clodfelter e colaboradores, 2015).

A associação entre o NO plasmático e o salivar é o novo desafio dos pesquisadores dedicados ao estudo desde composto e sua ação no organismo humano. Os resultados de estudos dessa natureza são controversos e não têm identificado as variáveis envolvidas na controvérsia.

Enquanto alguns estudos confirmam as variações de nitrito salivar com nitrito plasmático, outros estudos demonstram e afirmam a não associação entre nitrito salivar e plasmático, ou qualquer outra variável não relacionada diretamente à cavidade bucal.

Algumas pesquisas relatam que o exercício físico não produz variações significativas nas concentrações de nitrito salivar, afirmando que não há associação entre essas duas variáveis (González e colaboradores, 2008; Zambrano e colaboradores, 2009; Clodfelter e colaboradores, 2015).

Por outro lado, outros estudos relatam variações significativas na concentração de nitrito salivar a partir do exercício físico (Panossian e colaboradores, 1999; Diaz, e colaboradores, 2013).

Nesses estudos são relatados aumento na concentração de NO salivar a partir do exercício, corroborando a hipótese de que o exercício, ao potencializar a produção de NO circulante, expressa esse aumento de concentração de nitrito na saliva.

Há também relato de efeito inverso, isto é, o aumento da produção de NO circulante estimulada pelo exercício, acompanhado pela

diminuição na concentração do nitrito salivar (Moraes, 2014).

Os estudos sobre as interações dessa molécula com os diversos sistemas do corpo humano têm se multiplicado, contudo as interações com o esforço físico são raramente exploradas.

O objetivo deste trabalho é analisar o comportamento da produção do óxido nítrico a partir de diferentes tipos de exercícios físicos, alguns mais estáticos outros mais dinâmicos, uns menos intensos, outros mais, e nesse caminho buscar inferências sobre a relação desse analito e a saúde.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os voluntários desse estudo foram os participantes de grupos de atividades físicas desenvolvidos no Núcleo de Práticas Corporais do Campus Jatobá, da Universidade Federal de Jataí GO (UFJ).

Entre os critérios de inclusão estão: praticantes mais experientes e treinados; frequência de atividade física de pelo menos duas vezes por semana; não apresentar enfermidade grave, hipertensão ou diabetes.

Cada grupo formado por 20 a 30 voluntários, na faixa etária entre 18 e 35 anos de idade.

Há grupos que foram formados predominantemente por mulheres e outros por homens. Basicamente os voluntários foram de praticantes das seguintes modalidades:

Grupo jump
Grupo musculação
Grupo Crossfit
Grupo hidrogenástica
Grupo Pilates
Grupo spinning
Grupo controle

O grupo controle foi formado por pessoas com as mesmas características que os outros grupos, no entanto, não fizeram qualquer tipo de exercício. Foi feita coleta de saliva inicial no mesmo horário em que outros grupos.

Por volta de uma hora depois foi feita a segunda coleta, após 15 minutos a terceira coleta e 30 minutos após, a quarta coleta de saliva. Os tempos foram aproximadamente os mesmos em todos os grupos.

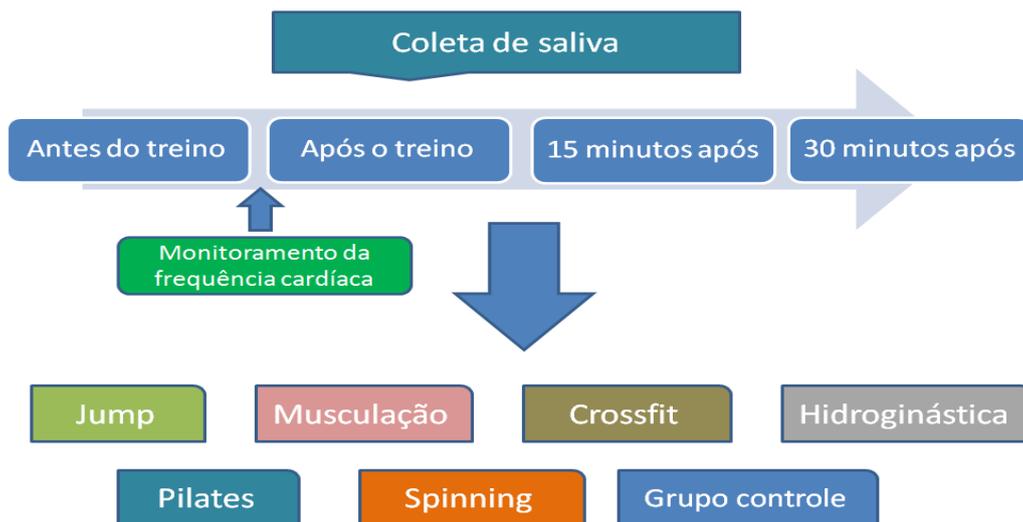


Figura 1 - desenho do estudo.

Este estudo se configura como observacional descritivo de mensuração (Hulley e colaboradores, 2003), no qual foram monitorados dois parâmetros: o óxido nítrico endotelial e a intensidade do treinamento. Para

o estudo do óxido nítrico foram utilizadas amostras de saliva.

E para a verificação da intensidade do treinamento foi observada a frequência cardíaca em treinamento. Após a coleta de dados, o material foi submetido a ensaios

laboratoriais a fim de se analisar as concentrações do óxido nítrico salivar.

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, conforme o parecer 2.012.893. Todos assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) antes do início da coleta de dados.

Para a coleta de saliva, os participantes receberam antes da seção de treinamento o kit de coleta embalado individualmente e foram instruídos de como proceder para a coleta. A salivação não foi estimulada.

Foi mantida no gelo durante o procedimento de coleta e até o transporte ao local de acondicionamento. Foi solicitado aos participantes do estudo que na noite anterior ao dia da coleta e no dia da coleta, não se alimentassem de verduras ou alimentos embutidos em função da ativação de via metabólica específica que provoca o aumento na concentração de nitritos na saliva, provocado por essa dieta e que poderiam interferir nos resultados do estudo. Após a coleta, as amostras de saliva foram acondicionadas e congeladas até a disponibilidade do reagente e dos materiais necessários à dosagem.

Para a dosagem do óxido nítrico foi quantificado o nitrito, devido à estabilidade da molécula, e para isso foi utilizado o reagente de Griess, da Molecular Probes® (Eugene, EUA), que permite a determinação colorimétrica da concentração de nitrito.

A densidade óptica (absorbância) foi medida por espectrofotometria, com filtro de 550nm. O uso do reagente de Griess é baseado no método proposto por Green (1982). As amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 10.000 rpm para precipitação de impurezas e de proteínas pesadas.

Foram utilizadas microplacas de 96 poços, de fundo chato com capacidade para 300 µL. Os poços preenchidos com 150 µL de amostra de saliva, 130 µL de água deionizada e 20 µL de reagente. Os padrões foram obtidos da diluição de nitrito de sódio e utilizados para obtenção da curva padrão.

A leitura das placas forneceu valores de absorbância que foram aplicados à equação da curva padrão para obtenção de valores de concentração de nitritos.

Na leitura espectrofotométrica a cor violeta indicou a presença de nitrito. Quanto mais intensa for a cor violeta, maior a concentração de nitrito na amostra de saliva.

A frequência cardíaca de treinamento dos participantes foi monitorada durante a seção de treinamento utilizando aparelho frequencímetro.

A frequência cardíaca de treinamentos foi mensurada na mesma seção de treino da coleta de saliva, a fim de procurar estabelecer a intensidade do treinamento realizado, conforme procedimento descrito por Djordjevic (2012).

A cada medição, aparelhos frequencímetros, marca Polar® (Kempele, Finlândia), foram ajustados em alguns voluntários da pesquisa selecionados aleatoriamente. O frequencímetro forneceu, ao final da seção de treinamento, a frequência cardíaca média da seção de treinamento.

A utilização do cálculo de intensidade de esforço baseado na frequência cardíaca média perde acurácia em relação a outros métodos (Rondon e colaboradores, 1998).

Entretanto, pode oferecer um parâmetro relativamente seguro, levando em consideração o tempo de treinamento e aferição. Utilizou-se o cálculo genérico de intensidade de trabalho que consiste em subtrair de 220 a idade do indivíduo, estabelecendo assim a frequência cardíaca máxima para esforço (César e colaboradores, 2002).

As intensidades variadas foram calculadas da fração dessa frequência cardíaca máxima, obtidas por cálculo utilizando regra de três simples.

A análise dos dados coletados foi de caráter estatístico, utilizou-se o software R i386, versão 3.2.1. A normalidade dos dados foi confirmada pelo teste Shapiro wilk.

Foi utilizado também o teste Análise de Variância (ANOVA) para comparação entre três ou mais agrupamentos de dados, com pos teste de Tukey, a fim de identificar quais agrupamentos apresentam diferenças.

O teste de correlação produto momento de Pearson identificou a existência de correlação entre dois conjuntos de dados, como concentração de nitrito e frequência cardíaca.

RESULTADOS

Os dados foram agrupados e testados de duas formas diferentes:

como grupo exercício físico, com 140 participantes, e grupo controle, com 30 participantes.

Como grupos específicos de diferentes modalidades de exercícios físicos, entre 20 e 30 participantes em cada grupo, e grupo controle, com 30 participantes.

Todos os grupos apresentaram normalidade.

Tabela 1 - resultados em μM de nitrito dos grupos separadamente mais ou menos erro padrão.

Grupos	Antes	Depois	Após 15 min	Após 30 min
Jump	46,32 \pm 4,47	58,67 \pm 9,03	44,72 \pm 6,81	38,87 \pm 4,35
Musculação	70,38 \pm 10,67	94,17 \pm 11,73	89,92 \pm 11,14	87,36 \pm 11,07
Crossfit	89,3 \pm 8,29	106,69 \pm 8,37	84,36 \pm 6,62	87,44 \pm 7,6
Hidroginástica	60,42 \pm 7,78	70,26 \pm 9,81	48,15 \pm 7,67	52,44 \pm 6,46
Pilates	62,81 \pm 7,45	53,2 \pm 6,36	50,69 \pm 8,35	47,47 \pm 7,4
Spinning	83,49 \pm 8,87	103,94 \pm 7,1	80,01 \pm 9,19	71,19 \pm 8,52
Média	68,62 \pm 3,89	80,39 \pm 4,3	66 \pm 3,97	63,88 \pm 3,88
Controle	63,24 \pm 7,06	61,6 \pm 7,33	62,5 \pm 7,62	60,2 \pm 8,23

A figura 2 apresenta o resultado geral de nitrito salivar de todos os participantes submetidos a treinamento físico do estudo.

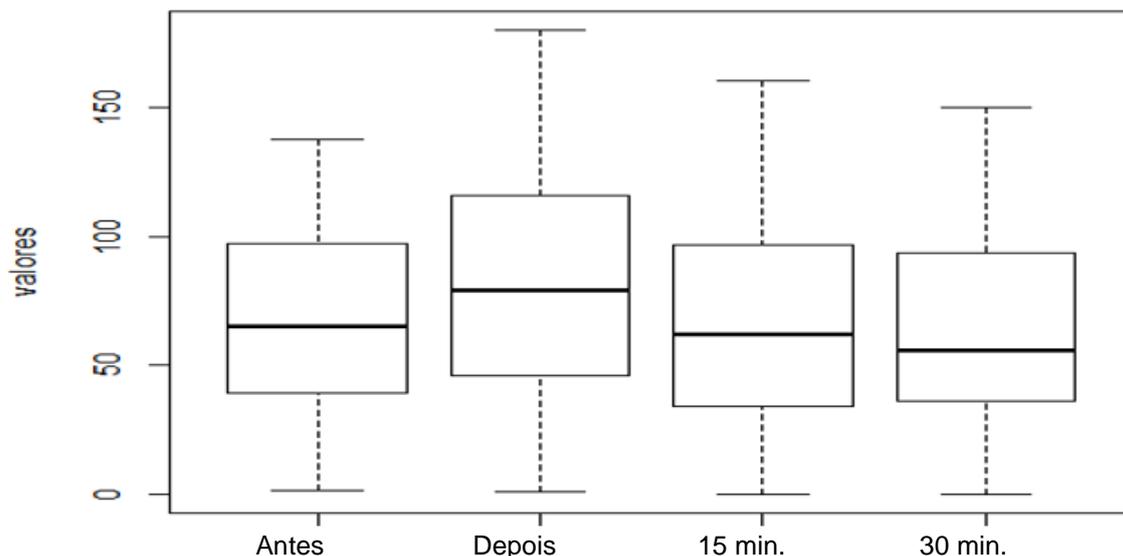


Figura 2 - Boxplot dos resultados de nitrito de todos os voluntários que participaram de algum grupo de exercício.

Como se observa, grande quantidade de voluntários apresentou medidas de nitrito acima de 100 μM após o exercício. Antes do exercício a mediana se concentra entre 50 e 70 e após o exercício a mediana se eleva para próximo de 90.

Aos 15 minutos após a seção de treinamento os valores estão mais dispersos, com sensível queda da mediana a valores semelhantes aos iniciais, mas, com muitos voluntários ainda apresentando níveis elevados

de nitrito. Aos 30 minutos após, a mediana desce a valor próximo de 50. Metade do grupo ainda apresenta valores altos e dispersos.

Os quatro momentos foram testados por teste de medidas repetidas ANOVA de uma entrada, com pós teste Tukey. Foi identificada diferença estatística significativa entre antes e depois do treino (p-valor 0,027), entre depois do treino e 15 minutos após (p-valor 0,032), e entre depois do treino e 30 minutos após (p-valor 0,017), todos com nível de significância $\alpha \leq 0,05$.

As outras comparações não apresentaram diferença significativa.

A imagem 3 é do grupo controle, que não praticou exercício físico. Como se vê, não há qualquer alteração significativa entre os 4 momentos de coleta de saliva.

Os tempos foram respeitados, mas a diferença mínima que se observa sugere diversidade alimentar e pode ser atribuída aos

diferentes horários de alimentação. Esse grupo foi formado por 30 voluntários com mesmo perfil dos outros participantes da pesquisa.

Também estes dados foram testados pelo teste de medidas repetidas ANOVA de uma entrada.

Porém nenhuma das comparações do teste apresentou diferença significativa.

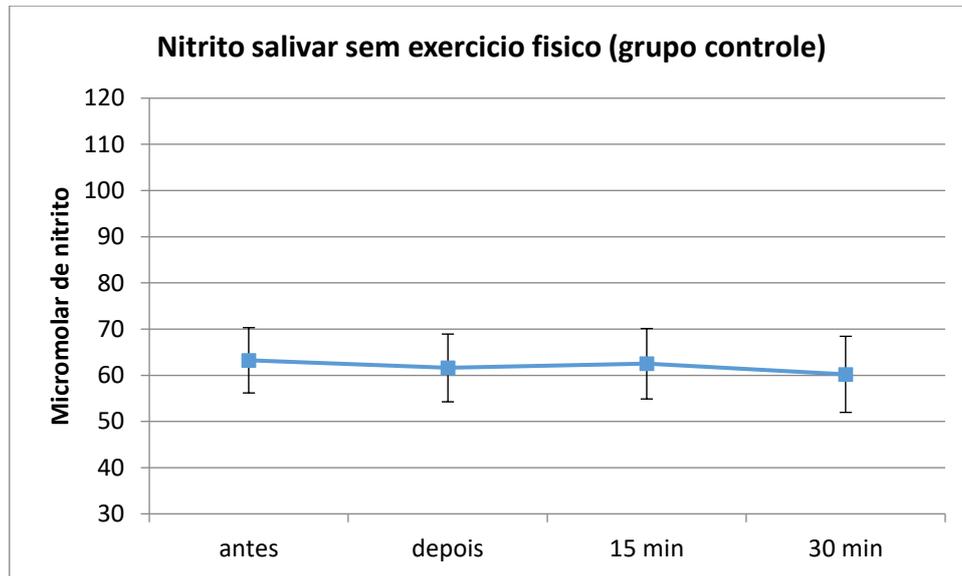


Figura 3 - Gráfico de linha dos resultados do grupo controle.

Também foi feita a comparação entre o grupo exercício e grupo controle em cada um dos quatro momentos de coleta. Foi usado o teste t student para a comparação de cada momento e os testes revelaram diferença estatística significativa na segunda coleta de saliva (p-valor 0,0032) e na terceira coleta de saliva (p-valor 0,041).

As imagens a seguir são os resultados separados por modalidade de treinamento físico, a fim de que se possa comparar os diferentes tipos de treinamentos e intensidades

com a produção de NO. Os gráficos por modalidade de treinamento apresentam a mesma escala de valores de nitrito em micromolar.

O grupo jump foi formado por uma turma de alunos de ambos os sexos que praticavam o jump juntos no mesmo horário. Era composta por 24 participantes. Cinco voluntários utilizaram frequencímetro durante a seção de treinamento e as médias de frequência cardíaca indicaram intensidade moderada.

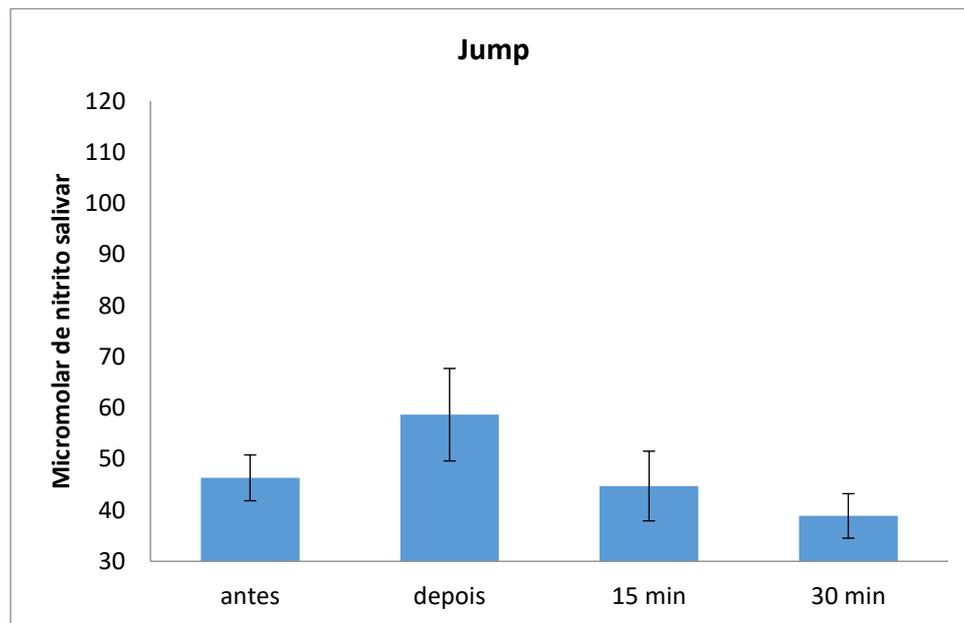


Figura 4 - resultado de nitrito salivar do grupo Jump.

O grupo musculação foi formado por 25 homens praticantes individuais que treinavam em diferentes horários, o que exigiu que as coletas desse grupo fossem feitas em

diferentes momentos. Desses voluntários, 8 utilizaram frequencímetro a fim de monitorar a frequência cardíaca e inferir sobre a intensidade, que neste grupo foi alta

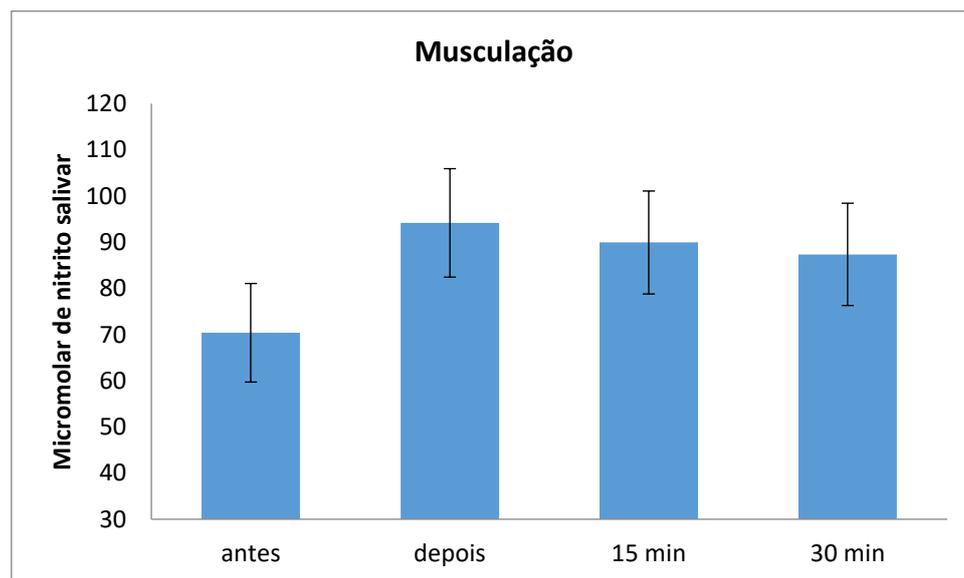


Figura 5 - resultados de nitrito salivar grupo musculação.

O grupo Crossfit foi formado por duas turmas de ambos os sexos entre 12 e 15 participantes, que praticavam a modalidade em diferentes horários, mas com o mesmo nível de

intensidade e mesmo grau de aptidão física. As médias de frequências cardíacas obtidas pelo uso de frequencímetro nesse grupo identificaram intensidade alta.

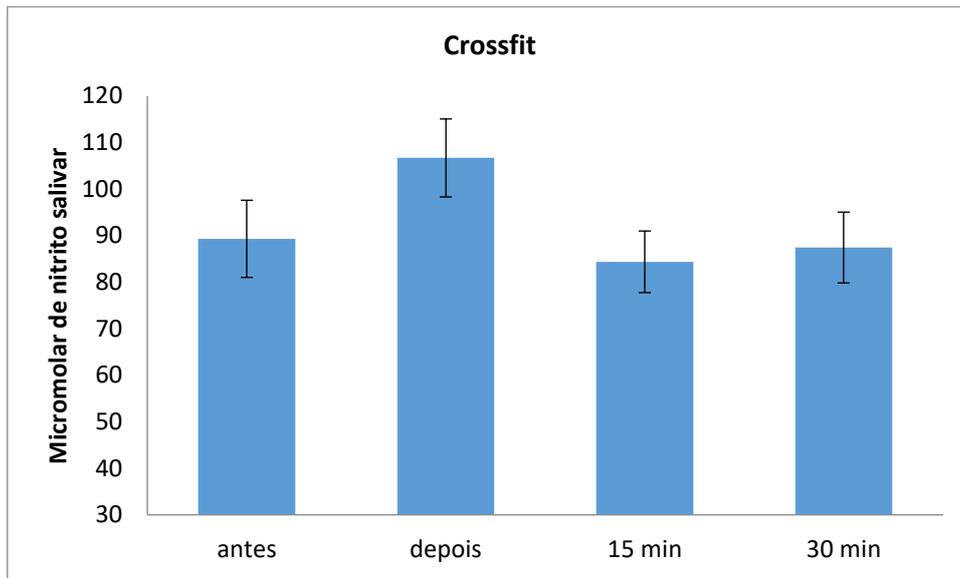


Figura 6 - resultados de nitrito salivar grupo crossfit.

O grupo hidroginástica foi formado por uma única turma de ambos os sexos, com 27 alunos que praticavam a modalidade no mesmo

horário e local. O uso de frequencímetro identificou treinamento com intensidade moderada.

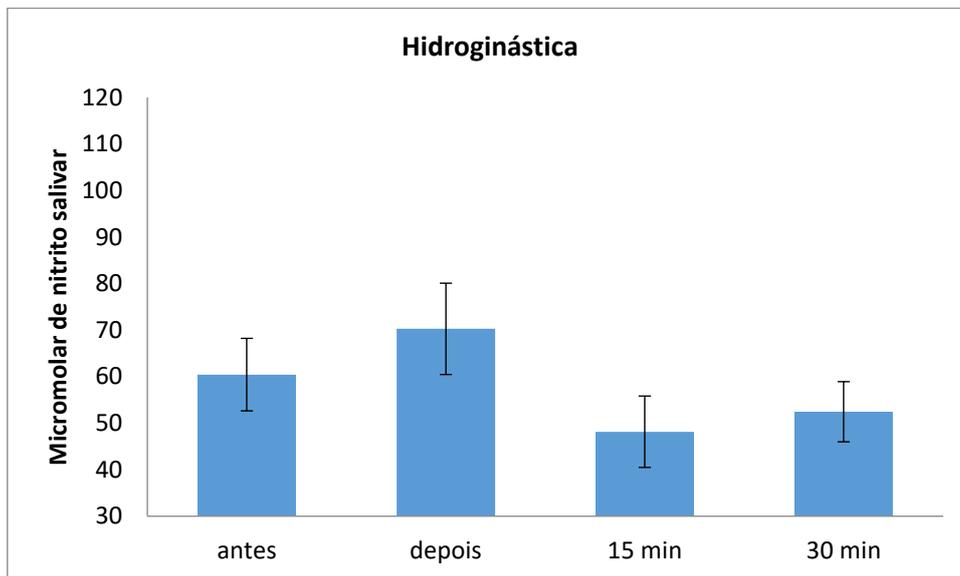


Figura 7 - resultados de nitrito salivar, grupo hidroginástica.

O grupo pilates foi formado por integrantes de quatro turmas. Os quatro grupos praticavam o pilates em horários diferentes e eram formados por 5 a 6 integrantes. 13

membros do grupo de pilates fizeram uso de frequencímetro durante a seção de treinamento. As médias de frequência cardíaca foram características de intensidade baixa.

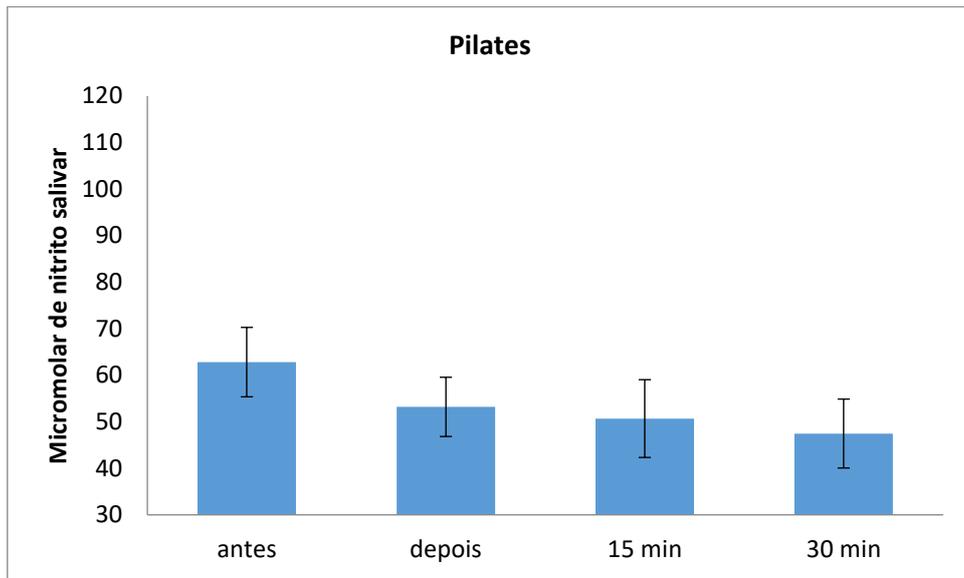


Figura 8 - resultados de nitrito salivar, grupo pilates.

O grupo de spinning foi formado por 15 homens recrutados separadamente dentro do perfil proposto na pesquisa. A coleta de cada um foi feita separadamente em horário pré

agendado. Cada membro desse grupo teve o exercício de 30 minutos com intensidade de 70% da carga máxima rigorosamente controlada por uso de frequencímetro.

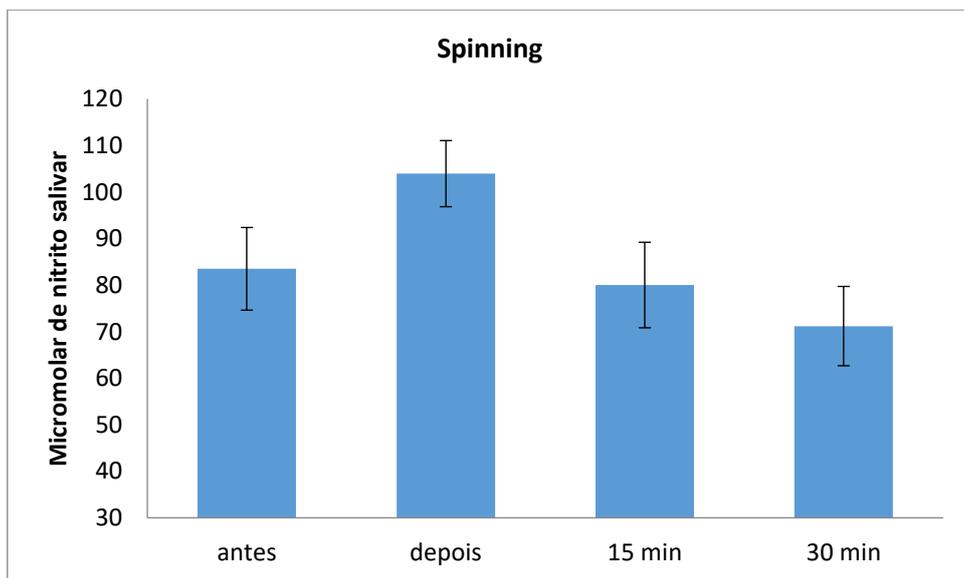


Figura 9 - resultados de nitrito salivar, grupo spinning.

A seguir os dados de frequência cardíaca, média de idade e intensidade de cada grupo.

Tabela 1 - resultados de frequência cardíaca em batimentos por Minuto (bpm); média de idade do grupo e cálculo de intensidade (percentagem da carga máxima).

Resultados	F.C. média no treino	Média de idade	Intensidade
Jump	127,8	29	67%
Musculação	159,6	32	85%
Crossfit	157,8	30	83%
Hidroginástica	116,5	33	62%
Pilates	97,8	28	51%
Spinning	132,7	34	70%

Em geral verificam-se resultados normais para o tipo de grupo de voluntários, adultos que praticam exercícios físicos regularmente e cuja dieta não foi controlada.

Cada grupo mensurado apresenta um comportamento específico no qual é clara a correlação entre frequência cardíaca e a produção de NO. A variação de intensidade do treinamento está diretamente relacionada à maior ou menor produção de NO detectada imediatamente após o treino.

DISCUSSÃO

Os dados sugerem a possibilidade de uso da saliva como método não invasivo de mensuração da concentração de NO estimulado pelo exercício.

Ainda existem controvérsias quanto à acurácia da medição do NO endotelial por meio da saliva. A comparação entre os resultados salivares e plasmáticos poderiam auxiliar na linha de análise.

Contudo, são tantas variáveis que interferem num e noutro método e nas possibilidades de resultados que se torna inviável a comparação (Takahama, Hirota, Takayuki, 2008).

Na primeira forma de comparação, entre grupo exercício e grupo controle, os resultados não deixam dúvidas acerca do efeito estimulador do exercício na produção de NO endotelial. Já na análise dos dados por grupos separados, os dados sugerem que a produção de NO e sua expressão salivar está relacionada à intensidade do treinamento realizado. Quanto maior a intensidade do treino, maiores as concentrações de NO produzidos. Os grupos que tiveram baixa expressão de NO foram os grupos em que o treinamento foi menos intenso. O pilates não apresenta qualquer efeito

na estimulação da produção de NO, com resultados nas mesmas faixas do grupo controle.

Outros grupos de treinamento com intensidade moderada também não apresentaram grande expressão de NO, mas apresentaram efeito estimulador, com visível diferença na expressão de NO entre antes do treino e imediatamente depois. Mesmo em modalidades de treinamentos com intensidades moderadas existe a estimulação da produção de NO. Essa estimulação, contudo, não se mostra duradoura, retornando a valores basais 15 minutos após o fim da seção de treino.

Os grupos de treinamento de intensidade alta, por outro lado, apresentaram grande expressão de NO logo após o treinamento, revelando que este tipo de exercício produz grande estimulação no endotélio.

Contudo, somente o grupo musculação demonstrou efeitos duradouros na produção do NO, com alta expressão ainda 15 e 30 minutos após o fim da seção de treino.

O grupo spinning, embora tenha feito exercício com rígido controle de frequência cardíaca / intensidade, caracterizada por 70% da capacidade de carga máxima, apresenta expressão muito evidente do estímulo da produção de NO pelo esforço físico. Esse grupo, contudo, parece não apresentar efeito duradouro, visto que 15 minutos depois do fim do treino os valores caíram a valores basais e 30 minutos depois os valores estavam ainda mais baixos.

É preciso destacar que os valores basais em todos os grupos diferem em função da dieta e do tempo passado desde a última refeição, parâmetro que não pôde ser controlado em nenhum dos grupos.

A produção de NO endotelial é dependente da disponibilidade de L-arginina, de cálcio intracelular e da enzima NO sintase endotelial (eNOS). Os resultados encontrados sugerem que em pessoas treinadas esses componentes estão em equilíbrio e disponíveis.

A redução das concentrações a níveis basais após 15 ou 30 minutos do fim do treino também sugerem que organismos treinados são capazes de metabolizar as espécies reativas do oxigênio (ROS) com eficiência, e prevenir o estresse oxidativo. O grupo musculação apresenta efeitos mais duradouros na produção de NO, o que, por outro lado, pode ser visto como potencializador da formação de ROS e estresse oxidativo. Entretanto, o efeito duradouro na produção de NO pós exercício pode ser indicativo de bio disponibilidade ótima de precursores e enzimas produtoras de NO.

O estresse oxidativo está associado a dificuldade do organismo em metabolizar as ROS e ao conseqüente dano celular causado. Isso pode ocorrer em função de treinamento muito intenso (Zuardi, 2012; Gliemann, Nyberg, Hellsten 2014).

CONCLUSÃO

O óxido nítrico produzido no endotélio a partir do atrito entre o sangue e as paredes dos vasos varia conforme a intensidade do exercício, ou seja, conforme o maior fluxo sanguíneo.

Algumas formas de exercício menos intensas não são capazes de potencializar a produção de NO endotelial, é necessário intensidade mínima que irá ativar a eNOS e todo o ciclo de produção do óxido nítrico. As atividades físicas testadas foram aquelas que se fazem presentes nas academias, de forma geral, e que são largamente frequentadas por usuários.

Novos estudos são necessários a fim de revelar fatores que envolvem a produção de NO e sua interação com os sistemas fisiológicos e metabólicos do organismo humano. Suplementos como L-arginina ou a L-citrulina precisam ser testados, assim como as concentrações e o tempo de presença das Espécies reativas de oxigênio, considerando que as ROS podem causar danos celulares graves em diversos tecidos.

REFERÊNCIAS

- 1-Barreto, R. L.; Correia, C. R. D. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. *Quim. Nova*. Vol. 28. Núm. 6. 1046-1054. 2005.
- Baskurt, O. K.; Ulker, P.; Meiselman, H. J. Nitric oxide, erythrocytes and exercise. *Clin Hemorheol Microcirc*. Vol. 49. Núm. 1-4. p.175-81. 2011.
- 2-Brandão, A. F.; Martins-Pinge, M. C. Nitric oxide alteration in the cardiovascular function by exercise training. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. Vol. 28. Núm. 1. p. 53-68. 2007.
- 3-Brum, P. C.; Silva, G. J. J.; Moreira, E. D.; Ida, F.; Negrão, C. E.; Krieger, E. M. Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats. *Hypertension*. Vol. 36. Núm. 6. p.1018-1022. 2000.
- 4-Cerqueira, N. F.; Yoshida, W. B. Óxido nítrico: revisão. *Acta Cir Bras*. Vol. 17. Núm. 6. 2002.
- 5-César, M. D. C.; Pellegrinotti, I. L.; Penatti, E. S.; Chiavoloni, G. A. Avaliação da intensidade de esforço da luta de caratê por meio da monitorização da frequência cardíaca. *Rev. Bras. Cienc. Esporte*. Vol. 24. Núm. 1. p. 73-81. 2002.
- 6-Clodfelter, W.H.; Basu, S.; Bolden, C.; Santos, P.C.; King, S.B.; Kim-Shapiro, D.B. The relationship between plasma and salivary NOx. *Nitric Oxide*. Vol. 21.p. 47:85-90. 2015. <http://dx.doi:10.1016/j.niox.2015.04.003>.
- 7-Diaz, M. M.; Bocanegra, O. L.; Teixeira, R. R.; Soares, S. S.; Espindola, F. S. Salivary nitric oxide and alpha-amylase as indexes of training intensity and load. *Int J Sports Med*. Vol. 34. Núm. 1. p.8-13. 2013. <http://dx.doi:10.1055/s-0032-1316318>.
- 8-Djordjevic, D. Z.; Dejan, G. C.; Vladimir, S. P.; Milena, S. V.; Vladimir, I. Z.; Nevena, S. B.; Dragan, S. R.; Dragan, M. D.; Vladimir, L. J. Changes in Athlete's Redox State Induced by Habitual and Unaccustomed Exercise. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2012.
- 9-Drexler, H.; Hornig, B. Endothelial dysfunction in human disease. *J Mol Cell Cardiol*. Vol. 31. p. 51-60. 1999.

- 10-Dusse, L. M. S.; Vieira, L. M.; Carvalho, M. G. Nitric oxide revision - Review Article. *Jornal Brasileiro de patologia e medicina laboratorial*. Vol. 39. Núm. 4. p. 343-350. 2003.
- 11-Dyakova, E. Y.; Kapilevich, I. V.; Shylko, V. G.; Popov, S. V.; Anfinogenova Y. Physical exercise associated with NO production: signaling pathways and significance in health and disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. Vol. 3. Núm. 19. 2015. <http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2015.00019>.
- 12-Flora Filho, R.; Zilberstein, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. *Metabolismo, síntese e funções*. *Rev Ass Med Brasil*. Vol. 46. Núm. 3. p. 265-71. 2000.
- 13-Forjaz, C. L. M.; Santaella, D. F.; Rezende, L. O.; Barretto, A. C. P.; Negrão, C. E. A Duração do Exercício Determina a Magnitude e a Duração da Hipotensão Pós-Exercício. *Arq Bras Cardiol*. Vol. 70. Núm. 2. p.99-104. 1998.
- 14-Gliemann, L.; Nyberg, N.; Hellsten, Y. Nitric oxide and reactive oxygen species in limb vascular function: what is the effect of physical activity? *Free Radic Res*. Vol. 48. Núm. 1. p.71-83. 2014.
- 15-Green, L. C.; Wagner, D. A.; Glogowski, J.; Skipper, P. L.; Wishnok, J. S.; Tannenbaum, S. R. Analyses of nitrate, nitrite and [15N]nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry*. Vol.126. 1982.
- 16-González, D.; Marquina, R.; Rondón, N.; Rodríguez-Malaver, A. J. Reyes, R. Effects of aerobic exercise on uric acid, total antioxidant activity, oxidative stress, and nitric oxide in human saliva. *Res Sports Med*. Vol.16. Núm. 2. p.128-37. 2008. <http://dx.doi.org/10.1080/15438620802103700>.
- 17-Hamer, M. The anti-hypertensive effects of exercise: integrating acute and chronic mechanisms. *Sports Medicine*. Vol. 36. Núm. 2. p.109-16. 2006.
- 18-Hulley, S. B.; Cummings, S. R.; Browner, W. S. B.; Grady, D.; Hearst, N.; Newman, T. B. Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica. *Porto Alegre. Artmed*. 2003.
- 19-Kingwell, B. A. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB J*. Vol. 14. p. 1685-96. 2000.
- 20-Medeiros Lima, D. J.; Mendes-Ribeiro, A. C.; Brunini, T. M.; Martins, M. A.; Mury, W. V. Freire, R. A.; Monteiro, W. D.; Farinatti, P. T.; Matsumura, C. Erythrocyte nitric oxide availability and oxidative stress following exercise. *Clin Hemorheol Microcirc*. Vol. 65. Núm. 3. p.219-228. 2017.
- 21-Moraes, J. F. V. N. Associação entre nível de atividade física, nitrito salivar e fatores de risco cardiovascular em adolescentes portadores de variantes comuns dos genes FTO e ECA. Tese de Doutorado. Brasília. PUC. 2014.
- 22-Paillard, T.; Rolland, Y.; Barreto, P. S. Protective Effects of Physical Exercise in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: A Narrative Review. *J Clin Neurol*. Vol. 11. Núm. 3. p.212-219. 2015. <http://dx.doi.org/10.3988/jcn.2015.11.3.212>.
- 23-Panossian, A. G.; Oganessian, A. S.; Ambartsumian, M.; Gabrielian, E. S.; Wagner, H.; Wikman, G. Effects of heavy physical exercise and adaptogens on nitric oxide content in human saliva. *Phytomedicine*. Vol. 6. Núm. 1. p.17-26. 1999.
- 24-Rondon, M. U. P. B.; Forjaz, C. L. M.; Nunes, N.; Amaral, S. L.; Barretto, A. C. P.; Negrão, C. E. Comparison Between Exercise Intensity Prescription Based on a Standard Exercise Test and Cardiopulmonary Exercise Test. *Arq Bras Cardiol*. Vol. 70. Núm. 3. p.159-166. 1998.
- 25-Snyder, S. H.; Bredt, D S. Biological roles of nitric oxide. *Scientific American*. p. 28-35. 1992.
- 26-Takahama, U.; Hirota, S.; Takayuki, O. Detection of nitric oxide and its derivatives in human mixed saliva and acidified saliva. *Methods Enzymol*. Vol. 440. p.381-96. 2008. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(07\)00824-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(07)00824-5).
- 27-Zago, A. S.; Zanesco, A. Óxido Nítrico, Doenças Cardiovasculares e Exercício Físico. *Atualização Clínica*. *Arq Bras Cardiol*. Vol. 87. Núm. 6. p. e264-e270. 2006.

28-Zambrano, J. C.; Marquina, R.; Sulbarán, N.; Rodríguez-Malaver, A J.; Reyes, R A. Aerobic exercise reduced oxidative stress in saliva of persons with Down syndrome. Res Sports Med. Vol. 17. Núm. 3. p.195-203. 2009. <http://dx.doi:10.1080/15438620903120843>.

29-Zuardi, L. R. Concentrações salivares, sanguíneas e plasmáticas de óxido nítrico em pacientes com doença periodontal antes e depois do tratamento periodontal não cirúrgico. Dissertação de Mestrado. Ribeirão Preto. USP. 2012.

Recebido para publicação em 08/08/2023

Aceito em 24/09/2023