

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA

ANA LUIZA AMARAL RIBEIRO

A INGESTÃO DE UMA DOSE DE SUCO DE BETERRABA NÃO REDUZ A PRESSÃO
ARTERIAL MEDIADA POR UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO AERÓBIO EM
MULHERES HIPERTENSAS APÓS A MENOPAUSA: UM ESTUDO CRUZADO,
ALEATORIZADO, DUPLO-CEGO E PLACEBO CONTROLADO

Uberlândia

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA

ANA LUIZA AMARAL RIBEIRO

A INGESTÃO DE UMA DOSE DE SUCO DE BETERRABA NÃO REDUZ A PRESSÃO
ARTERIAL MEDIADA POR UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO AERÓBIO EM
MULHERES HIPERTENSAS APÓS A MENOPAUSA: UM ESTUDO CRUZADO,
ALEATORIZADO, DUPLO-CEGO E PLACEBO CONTROLADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador: Dr. Guilherme Morais Puga

Co orientador: Dr. Erick Prado de Oliveira

Uberlândia

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R484i
2019 Ribeiro, Ana Luiza Amaral, 1995
 A ingestão de uma dose de suco de beterraba não reduz a pressão arterial mediada por uma sessão de exercício aeróbio em mulheres hipertensas após a menopausa [recurso eletrônico] : um estudo cruzado, aleatorizado, duplo-cego e placebo controlado / Ana Luiza Amaral Ribeiro. - 2019.

Orientador: Guilherme Morais Puga.

Coorientador: Erick Prado de Oliveira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1280>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Ciências médicas. 2. Menopausa. 3. Hipertensão. 4. Suco de beterraba. I. Puga, Guilherme Morais, 1982, (Orient.). II. Oliveira, Erick Prado de, 1983, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

Ana Luiza Amaral Ribeiro

A ingestão de uma dose de suco de beterraba não reduz a pressão arterial mediada por uma sessão de exercício aeróbio em mulheres hipertensas após a menopausa: um estudo cruzado, aleatorizado, duplo-cego e placebo controlado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Banca Examinadora

Presidente da banca (orientador): Prof. Dr. Guilherme Morais Puga

Titular: Profa. Dra. Fabiana Andrade Machado

Instituição: Universidade Estadual de Maringá

Titular: Profa. Dra. Carmen Silvia Grubert Campbell

Instituição: Universidade Católica de Brasília- UCB-DF

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Guilherme Morais Puga, pela orientação e apoio em qualquer circunstância durante estes anos.

Ao Prof. Dr. Erick Prado de Oliveira pela coorientação e por sempre estar disposto a colaborar quando necessário.

Aos profissionais do Laboratório de fisiologia cardiorrespiratória e metabólica da UFU pela disposição durante os dias de testes e coletas de dados.

A todos os meus colegas de laboratório, especialmente a Tállita Cristina de Souza, Victor Hugo Carrijo e Jaqueline Pontes Batista que acompanharam e auxiliaram de perto todo o desenvolvimento desse projeto.

Ao Igor Moraes Mariano que esteve ao meu lado em todos os momentos durante a pesquisa e fora dela.

A minha mãe Fabíola, meu padrasto Rafael e meu irmão Heitor, que sempre me acompanharam de perto durante todo o meu percurso.

Às voluntárias da pesquisa sem as quais este estudo não existiria.

A todos que participaram e contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Resumo

Introdução: O climatério consiste na transição da fase reprodutiva para não reprodutiva da mulher, e isso se deve a diminuição da produção do estrogênio pelos ovários, que conseqüentemente pode gerar uma maior predisposição para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, dentre elas a hipertensão arterial. O tratamento dessa doença é prioritariamente medicamentoso, porém há indícios que alguns alimentos específicos, como o suco de beterraba que é rico em nitrato (precursor do óxido nítrico), podem trazer benefícios a essa população, principalmente quando associados a prática de exercícios físicos. **Objetivo:** Verificar se a ingestão do suco de beterraba potencializa a HPE em mulheres após a menopausa hipertensas. **Métodos:** As voluntárias foram submetidas a três sessões experimentais, realizando a ingestão de três sucos diferentes: placebo (PLA), bebida não calórica sabor laranja (SL), e suco de beterraba (SB) e realizaram exercício aeróbio moderado em esteira ergométrica (65–70% da frequência cardíaca de reserva) por 40 minutos. O protocolo iniciava as 07h da manhã em jejum, quando ocorria a primeira medida da pressão arterial (PA), as 07h30 o suco era ingerido e a PA monitorada até às 09h30, horário em que iniciava a sessão de exercício. Após o final deste, a PA era aferida a cada 15 minutos durante 90 minutos. Amostras de saliva foram coletadas em repouso, imediatamente antes, após e 90 minutos após o exercício para análise do nitrito (NO_2^-). **Resultados:** Finalizaram o estudo 13 mulheres após menopausa hipertensas medicadas de idade média $58,1 \pm 4,62$ anos e ativas. A PA sistólica e diastólica reduziu ($p < 0,001$) em todos os pontos pós exercício nos três dias, sem diferença entre elas. Já o NO_2^- salivar foi diferente entre as sessões, sendo que SL não apresentou alteração em relação ao repouso, houve um leve aumento no PLA ($p < 0,05$) e um aumento significativo na sessão SB em relação aos demais ($p < 0,01$). **Conclusão:** A ingestão aguda de SB não altera as respostas da PA pós exercício em mulheres hipertensas após a menopausa, mesmo com o aumento da biodisponibilidade de NO demonstrada pelo NO_2^- .

Palavras-chave: Suco de beterraba. Menopausa. Hipertensão.

Abstract

Introduction: The climacteric consists of the woman transition from the reproductive to the non-reproductive phase, and this is due to the reduction of estrogen production by the ovaries, which consequently can generate a greater predisposition for the development of cardiovascular diseases, among them hypertension. The disease treatment is primarily medicated, but there are indications that certain specific foods, such as beet juice that is rich in nitrate (nitric oxide precursor), can bring benefits to this population, especially when associated with physical exercise. **Objective:** To verify if an acute intake of beetroot juice potentiates post-exercise hypotension (PEH) in hypertensive postmenopausal women. **Methods:** 13 hypertensive postmenopausal women (58.1 ± 4.62 years and 27.4 ± 4.25 kg/m² of BMI) were recruited to participate in three experimental sessions, taking three different beverages: beetroot juice (BJ), placebo – BJ nitrate-depleted (PLA), and orange flavored non-caloric drink (OFD). The participants performed a moderate aerobic exercise training on a treadmill, at 65-70% of heart rate reserve (HRR), for 40 minutes. The protocol started at 07h, after an overnight fast, when the first resting blood pressure (BP) was measured. The beverage was ingested at 07h30 and BP was monitored until the exercise training started, at 09h30. After the end of the exercise session, BP was measured every 15 minutes over a 90-minute period. Saliva samples were collected at rest, immediately before and after exercise, and 90 minutes after exercise for nitrite (NO₂⁻) analysis. **Results:** There was an increase in salivary NO₂⁻ with BJ intake when compared to OFD and PLA. A slight increase in salivary NO₂⁻ was observed with PLA when compared to OFD ($p < 0.05$), however, PLA was still lower when compared to BJ ($p < 0.001$). There were no changes in salivary NO₂⁻ with the OFD. Systolic and diastolic BP decreased ($p < 0.001$) on all post exercise time points after all interventions, with no difference between the three beverages. **Conclusion:** Acute BJ intake does not change PEH responses in hypertensive postmenopausal women, even with increased NO₂⁻/NO bioavailability.

Keywords: Beetroot juice. Menopause. Hypertension.

Lista de abreviaturas e siglas

AUC	<i>Area Under the Curve</i>
BJ	<i>Beetroot Juice</i>
BP	<i>Blood Pressure</i>
COX-2	Cyclooxygenase-2
DBP	<i>Diastolic Blood Pressure</i>
eNOS	Enzima Óxido Nítrico Sintase
eNOS	<i>Nitric Oxide Synthase</i>
FC	Frequência Cardíaca
FSH	Folículo Estimulante
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HR	<i>Heart Rate</i>
IPAQ	<i>Physical Activity Questionnaire</i>
MAPA	Monitorização Ambulatorial Da Pressão Arterial
MRPA	Medição Residencial Da Pressão Arterial
NADPH oxidase	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase</i>
NO	Óxido Nítrico
NO	<i>Nitric Oxide</i>
NO ₂ ⁻	<i>Nitrite</i>
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	<i>Nitrate</i>
NO ₃ ⁻	Nitrato
OFD	<i>Non-caloric Orange Flavor Drink</i>
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PEH	<i>Post-Exercise Hypotension</i>
PLA	Placebo
RPE	<i>Subjective Perception of Exertion</i>
SB	Suco de Beterraba
SBP	<i>Systolic Blood Pressure</i>
SL	Bebida não calórica sabor laranja

Sumário

1	Introdução	9
2	Fundamentação Teórica	11
	Climatério	11
	Hipertensão Arterial	12
	Exercício Físico	13
	Ingestão do suco de beterraba.....	15
3	Objetivos	18
	Objetivo geral	18
	Objetivos específicos.....	18
	Hipótese.....	18
4	Materiais e Métodos	19
	Participantes	19
	Intervenção	20
	Sessão de exercício físico	21
	Ingestão do suco de beterraba e placebo	21
	Medidas da pressão arterial	23
	Coleta e análise de saliva.....	24
	Análise estatística	24
5	Resultados	25
	REFERÊNCIAS	51

1 Introdução

Com o envelhecimento populacional em que o Brasil se encontra há modificações associadas à diminuição da fecundidade e ao aumento na longevidade da população. Observa-se uma diferença entre os sexos, no qual a composição da população foi de 51,5% de mulheres e 48,5% de homens (BRASIL, 2016; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2015). Com o aumento da expectativa de vida, as mulheres passam um terço da vida na pós menopausa, que consiste em uma das fases do processo do climatério. Este compreende no período de transição fisiológica da fase reprodutiva para não reprodutiva na mulher. É marcado por mudanças hormonais, como a diminuição nos níveis de estrogênio e progesterona, e a cessação permanente da menstruação, denominada como menopausa (COYLEWRIGHT; RECKELHOFF; OUYANG, 2008).

Nessa fase os riscos de desenvolver doenças cardiovasculares não só estão aumentados, como são maiores do que em homens nessa mesma faixa etária. Além disso, também ocorre aumento das taxas de obesidade, de perda da massa óssea e muscular, além de disfunções endócrino metabólicas (MEIRELLES, 2014).

Dentre as doenças cardiovasculares existe a hipertensão arterial sistêmica (HAS), uma doença crônica controlável e um importante fator de risco para o desenvolvimento de outras doenças cardiovasculares. É considerada um problema de saúde pública no Brasil e no mundo e o diagnóstico da HAS no Brasil é de 32,5% (36 milhões) nos indivíduos adultos, sendo mais de 60% nos idosos, contribuindo direta ou indiretamente para 50% das mortes por doença cardiovascular (MALACHIAS *et al.*, 2016). Usualmente o controle dessa doença é realizada com medicamentos, porém observa-se que os hábitos de vida saudáveis, como alimentação balanceada e prática de exercícios físicos influenciam diretamente na prevenção e no controle na HAS (MASALA *et al.*, 2017).

Uma população suscetível ao desenvolvimento da HAS são as mulheres na fase da pós menopausa. Isso ocorre pelo declínio da produção de estrogênio, sendo esse um hormônio cardioprotetor. Quando a produção desses hormônios sexuais está reduzida, há respostas diretas na diminuição da dilatação dos vasos, tendo a elevação da pressão arterial (PA) (DI GIOSIA *et al.*, 2018).

Dentre os meios não farmacológicos para evitar o desenvolvimento da doença, e quando já estabelecida, para tratar e até mesmo retardar o quadro, as formas mais eficientes são os hábitos de vida que o indivíduo segue, como a prática de exercício físico regular, a alimentação balanceada, os hábitos de sono regulares e a qualidade de vida de modo geral (ASHOR *et al.*,

2015; SOUSA *et al.*, 2017). É importante ressaltar que quando a doença é diagnosticada, para os casos de hipertensos estágio 1, sem fatores de risco associado, sem outras doenças associadas e se lesão de órgãos alvo a prática regular de exercício físico associado com uma dieta balanceada é suficiente para o controle da PA (MALACHIAS *et al.*, 2016). Porém quando o diagnóstico ocorre em estágios mais avançados ou tem alguma fator de risco associado mesmo no estágio 1, é imprescindível a utilização do medicamento de forma regular, sendo que o fármaco utilizado é prescrito por um médico a partir de características individuais de cada paciente (MALACHIAS *et al.*, 2016).

A prática de exercício físico regular se mostra um importante aliado contra a HAS e estudos apresentam (CARVALHO *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2017; TIBANA *et al.*, 2015) que tanto de forma aguda quanto crônica há diminuição dos valores da medida da PA propriamente dita, além de outras interferências fisiológicas, como diminuição do estresse oxidativo (ASHOR *et al.*, 2015), da frequência cardíaca (FC) de repouso, da PA de repouso, da variabilidade da PA, do aumento da variabilidade da FC (COTE *et al.*, 2015), melhora da função endotelial (SANTOS-PARKER; LAROCCHA; SEALS, 2014) e função ventricular (ASHOR *et al.*, 2015).

Outro aspecto que se mostra de elevada relevância são os hábitos alimentares. O consumo de vegetais, como beterraba, aipo, alface, rúcula e espinafre, contém cerca de 2500mg (40mmol / l) de nitrato (NO_3^-) inorgânico por kg de vegetal e essa é uma substância responsável por proporcionar vasodilatação (POORTMANS; GUALANO; CARPENTIER, 2015). Quando o NO_3^- inorgânico entra em contato com o ácido gástrico, pode ser convertido a óxido nítrico (NO), que por sua vez, é conhecido por possuir diversas funções fisiológicas e está ligado diretamente com a vasodilatação, sendo assim consumir alimentos ricos em nitrato inorgânico, pode ser uma estratégia para a regulação da PA (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002; DI GIOSIA *et al.*, 2018).

Um dos alimentos naturais rico em nitrato inorgânico é a beterraba e diversos estudos recentes (ASHOR; LARA; SIERVO, 2017; BAHADORAN *et al.*, 2017; CURTIS *et al.*, 2015) apresentam a associação da suplementação do suco de beterraba (SB) ao exercício físico, com resultados fisiológicos benéficos à saúde. Frente a esse cenário, levantou-se algumas questões específicas sobre o efeito da suplementação do SB associado ao exercício físico, aplicado à população de mulheres na pós menopausa e hipertensas medicadas.

2 Fundamentação Teórica

2.1 Climatério

A fase reprodutiva das mulheres tem seu início com a primeira menstruação (menarca) até a última menstruação (menopausa). A passagem da fase reprodutiva para a não reprodutiva é chamada de climatério e é caracterizada por alterações hormonais, morfológicas e funcionais. Para melhor delimitação dessa fase, divide-se em quatro subfases: pré-menopausa, perimenopausa, menopausa e pós menopausa (TAKAHASHI; JOHNSON, 2015).

A pré menopausa é caracterizada pelo início da irregularidade menstrual, no qual o fluxo sanguíneo e a recorrência das menstruações pode ser maior ou menor do que os habitual. É nesse período em que os folículos presente no ovário começam a responder de forma inadequada aos estímulos das gonadotrofinas hipofisárias (TAKAHASHI; JOHNSON, 2015).

A perimenopausa é a delimitação do tempo em torno à menopausa, com expressões maiores da irregularidade, sobretudo pela diminuição do fluxo e da recorrência da menstruação. É a fase mais intensa da pré menopausa e do climatério, já que o ovário está próximo da cessação da produção de estrogênio. Esse hormônio, por sua vez, tem ação de proteção desse sistema, mediado pelo efeito direto na parede do vaso sanguíneo e pelo metabolismo lipídico, e essa ação ocorre via receptores identificados em células do músculo liso e do endotélio (TAKAHASHI; JOHNSON, 2015).

O estrogênio é responsável pela vasodilatação, por estimulação de prostaciclina e de óxido nítrico, e pela diminuição da produção de agentes vasoconstritores, como a angiotensina 2, a endotelina-1 e as espécies reativas de oxigênio. Além disso impede o espessamento neointimal após a lesão do vaso, diminuindo os efeitos das lesões ateroscleróticas. (DI GIOSIA *et al.*, 2018; ZANESCO; ZAROS, 2009) Portanto, observa-se as consequências fisiológicas da diminuição extrema da produção desse hormônio no climatério.

A menopausa é a última menstruação propriamente dita e o diagnóstico só é confirmado quando há ausência da menstruação por 12 meses consecutivos, que ocorre devido a cessação da produção de estrógeno pelos ovários.

A pós menopausa é toda a fase procedente à menopausa e pode ser caracterizada pela elevação dos níveis do hormônio Foliculo Estimulante (FSH) e pela liberação mínima de estrogênio (ANTUNES; MARCELINO; AGUIAR, 2003). O FSH, por sua vez, é responsável pela regulação do crescimento, desenvolvimento e maturação da puberdade, além de estimular

o crescimento dos folículos ovarianos, a produção de estrogênio pelos ovários e regular a ovulação. Quando a ovulação ocorre, os níveis de FSH diminuem enquanto há um aumento de estrogênio. Portanto, com a menopausa, não ocorre ovulação e a mulher não produz mais estrogênio, não reduzindo os valores de FSH (DI GIOSIA *et al.*, 2018).

O climatério é uma fase extremamente delicada da vida de uma mulher, visto que ocorrem muitas mudanças no corpo que afetam diretamente a qualidade de vida dessa população. Nesse período podem aparecer alguns sintomas, como fogachos, insônia e diminuição da libido (TUOMIKOSKI; SAVOLAINEN-PELTONEN, 2017). Socialmente, há alguns fatores que estão relacionados com essa fase, como a saída dos filhos de casa e a aposentadoria, que podem afetar diretamente a alteração desses sintomas e até desenvolver outras doenças, como por exemplo, a depressão e a ansiedade (FRETТА, 2017). Fisiologicamente, com a diminuição de estrogênio e elevação permanente de FSH, essas mulheres podem estar mais suscetíveis a desenvolver algumas doenças cardiometabólicas, como obesidade e hipertensão arterial (MEIRELLES, 2014; ZILBERMAN *et al.*, 2015).

2.2 Hipertensão Arterial

A 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial publicada em 2016 (MALACHIAS *et al.*, 2016) apresenta que a HAS é uma condição clínica multifatorial caracterizada por elevação sustentada dos níveis pressóricos de ≥ 140 e/ou 90 mmHg. Porém em 2017, o Colégio Americano de Cardiologia (WHELTON *et al.*, 2017) apresentou uma nova diretriz em que diz que níveis pressóricos de ≥ 130 –139 e/ou 80–89 mmHg já é diagnóstico de HAS. Essa doença frequentemente se associa a distúrbios metabólicos, alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo, sendo agravada pela presença de outros fatores de risco, como dislipidemia, obesidade abdominal, intolerância à glicose e diabetes melito. Mantém associação com eventos de morte súbita, acidente vascular encefálico, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica e doença renal crônica, fatal e não fatal.

Há alguns fatores de risco relacionados à HAS: o envelhecimento, que no Brasil está em elevação dos índices de idosos devido ao aumento da expectativa de vida; sexo e etnia, sendo maior em mulheres e em pessoas negras; excesso de peso e obesidade; consumo excessivo de sódio; alcoolismo; sedentarismo; fatores socioeconômicos, sendo que adultos com menor nível de escolaridade (sem instrução ou fundamental incompleto) apresentaram a maior prevalência de HAS autorreferida; e genética (MALACHIAS *et al.*, 2016).

Dentre os meios para diagnóstico da HAS há a medição da PA no consultório, que pode ser feita com esfigmomanômetros manuais, semiautomáticos ou automáticos e a medição da PA fora do consultório, sendo eles através da medição residencial da pressão arterial (MRPA), ou da monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) de 24 horas (MALACHIAS *et al.*, 2016).

Os meios realizados fora do consultório fornecem informações semelhantes e estimam o risco cardiovascular, porém só a MAPA avalia a PA durante o sono. Após a avaliação devida da PA, os pacientes podem ser diagnosticados como normotensos, pré hipertensos ou hipertensos. Os indivíduos normotensos são aqueles no qual as medidas de consultório são ≤ 120 e/ou 80 mmHg e as medidas fora dele confirmam os valores considerados normais. Pacientes pré hipertensos são aqueles em que a pressão arterial sistólica (PAS) está entre 121 e 139 e/ou a pressão arterial diastólica (PAD) entre 81 e 89 mmHg. Esses indivíduos têm maior probabilidade de se tornarem hipertensos e maiores riscos de desenvolvimento de complicações cardiovasculares quando comparados a indivíduos com PA normal, ≤ 120 e/ou 80 mmHg, necessitando de acompanhamento periódico (MALACHIAS *et al.*, 2016).

A abordagem terapêutica da HAS inclui medidas não medicamentosas e o uso de fármacos anti-hipertensivos, com o objetivo de reduzir a PA, proteger órgãos-alvo, prevenir desfechos cardiovasculares e renais. Os pacientes diagnosticados iniciam o uso de fármacos anti-hipertensivos, sendo uma forma eficaz de controle da PA e redução de demais riscos cardiovasculares. Porém observa-se que quando não há mudanças nos hábitos de vida, com a inclusão da prática de exercício físico diário e a alimentação saudável, o quadro hipertensivo pode progredir para os próximos estágios e ainda mantém riscos de desenvolver outras doenças cardiovasculares e metabólicas. (MALACHIAS *et al.*, 2016; MASALA *et al.*, 2017)

Estudos recentes (PESCATELLO *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2016) apresentam dados importantes na redução da PA em resposta ao exercício físico, principalmente em exercícios de força e aeróbio. Uma meta-análise (SOUSA *et al.*, 2017), apresentou que o treinamento com pesos isolado é responsável pela redução da PAS e PAD em indivíduos pré hipertensos e hipertensos, e essa diminuição é mais presente em idosos.

2.3 Exercício Físico

A atividade física tem sido definida como "qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos que resulta em gasto de energia", sendo que ela está intimamente

relacionada, mas distinta, ao exercício físico. O exercício é um subconjunto da atividade física, definido como "movimento corporal planejado, estruturado e repetitivo feito para melhorar ou manter um ou mais componentes da aptidão física". O que se indica para a população adulta é a prática de 30 minutos ou mais de atividade física de intensidade moderada na maioria dos dias da semana, de preferência todos os dias (PATE *et al.*, 1995).

Quanto a prática de atividade física no Brasil, estima-se que 62,1% da população a partir de 15 anos de idade não pratica nenhum tipo de atividade física. As mulheres praticam menos que os homens e a medida em que a população envelhece essa prática diminui, mostrando a importância do desenvolvimento de práticas públicas para estimular a prática de exercício (IBGE, 2015).

A prática da atividade física é de suma importância para o bom funcionamento fisiológico do organismo (ZANESCO; ANTUNES, 2007) e observa-se que sedentarismo é considerado preditor para a mortalidade prematura (YOUNG *et al.*, 2016). Além disso há uma relação direta entre a inatividade física e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como a HAS (YOUNG *et al.*, 2016).

Dentre o exercício físico, cada modalidade apresenta respostas específicas, sendo que o exercício aeróbio é responsável por promover importantes alterações hemodinâmicas (ROMERO; MINSON; HALLIWILL, 2017). Uma dessas alterações é a hipotensão pós exercício (HPE), que consiste na redução da PA de repouso em até 24 horas após a sessão do exercício físico (GOMES ANUNCIAÇÃO; DOEDERLEIN POLITO, 2011), sendo essa uma intervenção importante para indivíduos hipertensos, em que a PA de repouso é patologicamente elevada.

Em mulheres após a menopausa observa-se que o exercício físico praticado de maneira crônica atenua o envelhecimento arterial, na medida em que causa adaptações vasculares funcionais e estruturais que colaboram para a manutenção da normalidade da pressão arterial (MENDOZA *et al.*, 2016). Dentre essas adaptações há uma diminuição da rigidez arterial do indivíduo ativo ao se comparar com sedentário e o aumento da atividade da enzima óxido nítrico sintase (eNOS) com consequente aumento da atividade do NO (MENDOZA *et al.*, 2016), podendo levar a um aumento da vasodilatação (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002).

Em uma sessão aguda de exercício físico também há elevação da biodisponibilidade do NO através do aumento do fluxo sanguíneo pulsátil provocado pelo exercício. Essa pressão exercida na parede vascular e a tensão de cisalhamento estimulam a produção do NO, que quando liberado gera vasodilatação e consequente redução da resistência vascular (GOMES

ANUNCIACÃO; DOEDERLEIN POLITO, 2011), também se mostrando uma estratégia para a redução da PA, principalmente quando pensado na população hipertensa.

Devido a HAS, indivíduos hipertensos possuem menor biodisponibilidade do NO, principalmente devido à disfunção endotelial causada pela doença que gera uma menor atividade da eNOS (KORSAGER LARSEN; MATCHKOV, 2016). Dentre às estratégias para melhorar a biodisponibilidade de NO, além da prática do exercício físico, é por meio da ingestão de precursores do NO através de alimentos e suplementos, como o suco de beterraba, uma bebida rica em nitrato inorgânico (KAPIL *et al.*, 2010).

2.4 Ingestão do suco de beterraba

A beterraba é uma hortaliça com origem das regiões de clima temperado da Europa e Norte da África, que pertence à família Quenopodiaceae, caracterizada por possuir uma raiz tuberosa comestível. No Brasil seu cultivo é realizado, principalmente, nas regiões Sudeste e Sul. A coloração avermelhada da beterraba é dada pelas betalaínas, pigmentos nitrogenados da ordem Caryophyllales, que aparentemente exibem atividades antioxidantes na classe de catiônicos dietéticos (ALVES *et al.*, 2008).

Além das betalaínas, a beterraba também possui outros compostos bioativos, como fibras, açúcar, vitaminas do complexo B e minerais, como potássio, sódio, cobre e zinco (ALVES *et al.*, 2008). A raiz dessa hortaliça pode ser consumida de diversas maneiras, como seca ao forno, cozida, em conserva, na forma de purê, de geleia processada e através do suco (GULDIKEN *et al.*, 2016). Além de todos esses benefícios nutricionais supracitados, os principais estudos realizados com o SB acontecem principalmente por ser uma bebida rica em NO_3^- , um potente precursor do NO.

O NO_3^- , quando ingerido, é reduzido a NO_2^- ainda na boca a partir de ações de bactérias simbióticas na superfície dorsal da língua através da xantina oxidase. Essa saliva, rica em compostos nitrogenados, chega ao estômago e quando em contato com o ácido gástrico, reações não enzimáticas convertem uma pequena parte do NO_2^- a NO. O NO_3^- e o NO_2^- remanescente são rapidamente absorvidos pelo estômago e pelo duodeno para entrar na circulação sistêmica e então serem convertidos no sangue e nos tecidos a NO bioativo. Aproximadamente de 20-25% do NO_3^- é reabsorvido da corrente sanguínea e concentrado nas glândulas salivares para posteriormente ser um substrato produtor de NO_2^- , que é ingerido novamente para sua subsequente redução. Essa reação gera elevação na concentração desses íons no plasma que

favorece a produção de NO endotelial, aplicando mecanismos de redução enzimática (xantina oxidase, enzimas da cadeia respiratória e aldeído oxidase) e não enzimáticos (hemoglobina desoxigenada / mioglobina, prótons, vitamina C e polifenóis). Este método de redução é estimulado durante condições com baixa disponibilidade de oxigênio e pH ácido, o que consente que a síntese de NO seja situada em determinados momentos específicos (OCAMPO *et al.*, 2018).

O NO pode se difundir livremente através da membrana das células-alvo e o aumento de sua concentração promove vasodilatação por meio de diferentes mecanismos celulares (proteína quinase dependente de GMPc; monofosfato de guanosina cíclica; e hiperpolarização) e está associado a diminuição da PA através do relaxamento muscular no endotélio e melhora do fluxo sanguíneo (OCAMPO *et al.*, 2018).

Inicialmente o NO_3^- e o NO_2^- foram taxados como agentes carcinogênicos, pela ideia que o NO_2^- em combinação com determinadas aminas e amidas poderiam formar as nitrosaminas. Alimentos embutidos contém uma grande quantidade de NO_2^- , com o objetivo de afetar sua aparência, sabor e principalmente para a segurança e qualidade das carnes através da sua atividade antimicrobiana. Por esse motivo foi estabelecido uma segurança diária com a quantidade máxima de ingestão de NO_3^- e o NO_2^- . Porém o que se observa é que em vegetais, água potável e até no colostro e leite materno, há uma maior quantidade de NO_3^- e o NO_2^- ao se comparar com a carne e com a quantidade de ingestão indicado, levando a questionar se o problema que associa o NO_3^- e o NO_2^- com potencial carcinogênese está nesses nutrientes em si ou em outras substâncias presentes nos embutidos, já que a relação entre vegetais, água potável e leite materno é negativa com o desenvolvimento de determinados tipos de câncer (BEDALE; SINDELAR; MILKOWSKI, 2016). Outra hipótese é que esses alimentos naturais contém muitos antioxidantes, e por isso os malefícios do NO_3^- e o NO_2^- são combatidos, restando apenas o benefício. Além disso é importante salientar que o próprio corpo humano tem a capacidade de reabsorver o NO_3^- circulante através das glândulas salivares, sendo que o NO_2^- convertido através do NO_3^- impede o crescimento de patógenos orais comuns e do intestino e potencializa os efeitos bactericidas dos fluídos gástricos, mostrando como essa substância é necessária para o organismo (BEDALE; SINDELAR; MILKOWSKI, 2016).

Quanto a segurança da ingestão de NO_3^- , não foi encontrado nenhum impacto negativo sobre a função renal em repouso, mostrando indícios de que não há risco tóxico nessa ingestão, porém não há estudos específicos que avaliam os impactos e riscos da ingestão a um prazo muito longo (POORTMANS; GUALANO; CARPENTIER, 2015).

Nos últimos anos a suplementação com o SB vem sendo estudada com o objetivo de averiguar respostas fisiológicas e metabólicas (ASHOR; LARA; SIERVO, 2017; CASTRO *et al.*, 2018; CURTIS *et al.*, 2015; JONES, 2014), tanto na área de nutrição, quanto na área de Educação Física. As principais análises realizadas são no desempenho esportivo, avaliando o consumo de oxigênio e a melhora do desempenho, em treinamento de força, verificando o desempenho muscular (BETTERIDGE *et al.*, 2016; CASTRO *et al.*, 2018; CLIFFORD *et al.*, 2016), e na área da saúde, buscando respostas pressóricas e melhor consumo de oxigênio para indivíduos com diversas doenças, como doença pulmonar obstrutiva crônica (CURTIS *et al.*, 2015; FRIIS *et al.*, 2017), insuficiência cardíaca (ZAMANI *et al.*, 2015) e HAS (OCAMPO *et al.*, 2018).

Quanto à ingestão do SB em pacientes hipertensos como efeito hipotensor ainda há controvérsias quanto ao seu efeito. Em estudo com hipertensos medicados (BONDONNO *et al.*, 2015) não foi encontrado efeito significativo na redução da pressão arterial após a suplementação de SB por uma semana, provavelmente devido ao controle realizado pelo fármaco anti-hipertensivo e pela PA basal estar controlada. Por outro lado um estudo (KAPIL *et al.*, 2015) com a mesma população encontrou respostas hipotensoras com 4 semanas de ingestão do SB, sendo que a magnitude da redução da PA foi semelhante a provocado pelo fármaco, mostrando que a partir da PA basal elevada, o SB tem efeito na estabilização dos valores da PA. Além disso, não foi encontrado nenhum estudo específico com a ingestão do SB associado ao exercício em mulheres hipertensas após a menopausa.

Observa-se em recente metanálise (OCAMPO *et al.*, 2018) que há uma escassez de estudos clínicos realizados na população hipertensa, principalmente relacionado com a prática do exercício físico. Além disso as respostas fisiológicas dessa população a ingestão do SB parecem ser promissoras, porém ainda são inconclusivas, mostrando a necessidade de mais estudos. A partir dos indícios dos efeitos hipotensores causados pela ingestão do SB associado ao exercício físico, é importante realizar a investigação desse possível aliado no tratamento de mulheres hipertensas após a menopausa.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

O objetivo desse estudo foi verificar a influência da ingestão do suco de beterraba na hipotensão pós exercício em mulheres após a menopausa hipertensas.

3.2 Objetivos específicos

- a) avaliar a ingestão do suco de beterraba nas respostas das pressões arteriais sistólica e diastólica;
- b) avaliar a relação entre o nitrito salivar com as respostas da pressão arterial após ingestão do suco de beterraba.

3.3 Hipótese

A hipótese alternativa do presente estudo é de que a ingestão do suco de beterraba aumentará a biodisponibilidade do nitrito salivar e conseqüentemente a vasodilatação, potencializando a hipotensão pós exercício.

4 Materiais e Métodos

O estudo foi cruzado, randomizado, duplo cego e placebo controlado e ocorreu no Laboratório de Fisiologia Cardiorrespiratória e Metabólica na Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil. Foi aprovado pelo Comitê de Ética local (CAAE: 70104717.0.0000.5152) e registrado no Clinicaltrials.gov (número: NCT03620227). Todos as participantes concordaram e assinaram um termo de consentimento informado antes da admissão ao estudo.

4.1 Participantes:

Participaram deste estudo 13 voluntárias recrutadas a partir do banco de dados de mulheres que se inscreveram para realizarem os projetos desenvolvidos no laboratório, divulgados a partir mídias tradicionais e sociais (TV, rádio, cartazes e redes sociais), sendo mulheres na pós-menopausa (amenorreia de, no mínimo, 12 meses e [FSH] > 40mIU/mL), hipertensas controladas medicadas, que não poderiam utilizar medicamentos da classe β bloqueador, com idade entre 50 e 70 anos, sem o uso de terapia hormonal, aptas a realizarem exercícios físicos na esteira ergométrica, sem nenhuma alergia alimentar que comprometa o estudo, não poderia ter sensibilidade ao nitrato, sem histórico de acidente vascular encefálico ou infarto agudo do miocárdio, não poderia apresentar diagnóstico de Diabetes Mellitus, não poderia ser fumante e deveriam ter realizado avaliação cardiológica com um médico especialista antes da intervenção e apresentar atestado comprovando a aptidão para a prática de exercícios físicas. Os critérios de exclusão se aplicam para voluntárias que não conseguirem realizar o protocolo de teste por algum motivo, podendo ser devido a intolerância ao exercício, ingestão dos sucos, ou ao tempo de jejum.

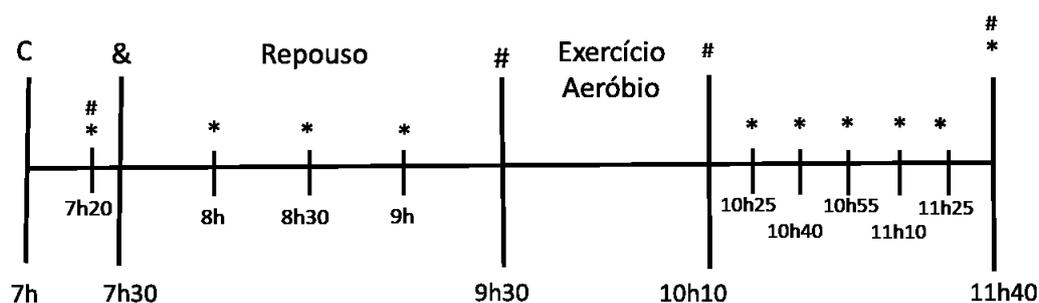
Todas as participantes incluídas nos critérios, foram randomizadas aleatoriamente (site www.random.org) quanto a ordem da ingestão do suco, sendo os sucos: Suco de Beterraba (SB), Placebo (PLA) e bebida não calórica sabor laranja (SL). Elas também responderam uma anamnese, questionário de nível de atividade física (*International Physical Activity Questionnaire* - IPAQ versão curta) (MATSUDO *et al.*, 2001) e realizaram as medidas antropométricas: massa corporal pela balança eletrônica Filizola; estatura aferida com estadiômetro fixo Sanny; circunferências abdominal pela fita métrica inelástica de 0,5 cm de

largura Filizola; e composição corporal pela bioimpedância do Modelo Biodinâmico 450c, Biodinâmica, Shoreline, WA, Estados Unidos).

4.2 Intervenção:

O protocolo de intervenção teve duração de no mínimo 10 dias e máximo de 21 dias incluindo sessões experimentais e períodos de *wash out*, nos quais se realizou o teste físico com a ingestão do suco ou dos placebos. A voluntária chegava no laboratório às 07h e era liberada às 11h40. Durante todo esse tempo de permanência as voluntárias ficaram em repouso sem nenhuma atividade física e sem a ingestão de alimentos. Na figura 1 é retratado o desenho experimental das sessões experimentais.

Figura 1- Desenho experimental das sessões.



C chegada ao laboratório; * medida de PA; # coleta de saliva; & ingestão; Fonte: A autora.

Durante todas as sessões experimentais as voluntárias chegaram às 7h00 após jejum noturno de 8 horas e a PA foi medida: após 20 minutos de repouso na posição sentada (07h20); 30 minutos após o início do consumo de suco e a cada 30 minutos (às 08h, 08h30 e 09h) até o exercício; e a cada 15 minutos por 90 minutos após o exercício aeróbio. As amostras de saliva foram coletadas após o repouso de 20min (07h20), imediatamente antes (9h30) e imediatamente após (10h10) o exercício aeróbio e 90 (11h40) minutos após o término do exercício. A frequência cardíaca (FC) (Polar®RS800CX) foi medida nos 20 minutos de repouso (entre 07h e 07h20), durante o exercício e durante os 90min após o exercício físico. A ingestão de suco ocorreu 10 minutos após o término do repouso (07h30) e levou 15 minutos para consumir todo o conteúdo. O exercício aeróbio teve duração de 40 minutos (9h30 a 10h) e então elas puderam beber até 250ml de água. Durante toda a intervenção, além do cegamento das voluntárias, os avaliadores também ficaram cegos quanto ao consumo do suco.

4.3 Sessão de exercício físico

O tipo de exercício aplicado foi o aeróbio na esteira ergométrica de intensidade moderada e duração de 40 minutos contínuos, sendo que os primeiros 5 minutos foram de aquecimento sem inclinação da esteira e os 2 últimos minutos de volta a calma. A velocidade da esteira poderia chegar entre 5,0 km/h à 5,5 km/h e o incremento da intensidade foi imposto a partir da inclinação da esteira até a voluntária chegar na zona de frequência pré-estabelecida entre 65% e 70% da frequência cardíaca de reserva ($FC_{res.}$), que foi calculada a partir da fórmula de Karvonen (KARVONEN; KENTALA; MUSTALA, 1957) ($FC_{máx.} - FC_{rep.}$) x intensidade + $FC_{rep.}$). Para a realização desse cálculo, levou-se em consideração a FC de repouso da voluntária, que foi averiguada no primeiro dia de coleta, nos 20 minutos iniciais de repouso, sendo utilizada a FC mínima alcançada durante esse tempo e a FC máxima estimada pela fórmula de 220-idade.

Durante toda a sessão de exercício a FC foi monitorada para se manter dentro da zona estipulada e foi aplicado a Escala de Borg (BORG, 1982) para avaliação da percepção subjetiva de esforço (PSE) da dispneia e fadiga de membros inferiores separadamente, sendo que o controle da FC e da PSE ocorria a cada 2 minutos. Caso a FC estivesse fora da zona de frequência estipulada a carga era ajustada. Logo quando o exercício finalizava e 30 minutos após a finalização, a PSE total do exercício era questionada e anotada para a avaliação geral do exercício.

4.4 Ingestão do suco de beterraba e placebo

As voluntárias foram aleatorizadas quanto a ordem da ingestão dos sucos. Para a aleatorização, antes de iniciar as coletas foi definido códigos que foram do número 1 ao número 20, futuramente correspondente para cada voluntária. Foi dado 1 código para cada suco (suco 1, suco 2 e suco 3) e 1 código para cada sessão (sessão 1, sessão 2, e sessão 3) e então as primeira e segunda sessões foram sorteadas (site random.org) para cada voluntária. Quanto a intervenção, foram realizados três diferentes sucos:

SB, que consistiu em 35ml de suco de beterraba concentrado (Tabela 1) com 400mg de nitrato, (Beet-It Sport Shot, James White Drinks Ltd., Ipswich, UK), diluído em 315ml de água

destilada com 3 gramas de suco de laranja em pó diluído (Clight, Mondelez International, Inc.), totalizando na ingestão de 350ml de suco (20.78mmol/kg).

PLA (3.86mmol/kg), que consistiu no mesmo processo de SB, porém filtrado na resina de troca iônica capaz de depletar o NO_3^- (PA101 OH-, Permution®) (CASTRO *et al.*, 2018). O protocolo para o processo de depleção do NO_3^- iniciou com o contato de 700 ml de SB em 100ml da resina por 20 minutos em uma garrafa vedada em movimento. Após esse tempo o conteúdo da garrafa passou por um filtro de pano, sendo que o conteúdo era despejado de forma lenta para um melhor contato do suco com a resina. Uma pequena porção do suco era retornado à garrafa com o objetivo de retirar a resina remanescente da garrafa e então era despejado novamente no filtro. Após esse processo inicial o suco foi filtrado na mesma resina por mais 3 vezes de forma lenta. Posterior a fase de depleção do NO_3^- o suco era armazenado na geladeira e a pesquisadora responsável por realizar o cegamento dos sucos o dividia em duas garrafas vedadas com o conteúdo de 350ml em cada recipiente para ser servido às voluntárias.

Tabela 1- Informação nutricional do suco de beterraba concentrado (Beet-It Sport Shot, James White Drinks Ltd., Ipswich, UK).

Informação Nutricional		
Valores típicos	100ml	35ml
Calorias (valor energético)	684 kJ 162 kcal	239kJ 57 kcal
Gorduras	0,7g	0,3g
Saturadas	0,2g	0,1g
Carboidratos	35,4g	12,4g
Açúcares	35,4g	12,4g
Proteína	7,3g	2,6g
Sódio	0,3g	0,1g

Fonte: Beet-It Sport Shot, James White Drinks Ltd., Ipswich, UK

SL, que foi composto por 3 gramas de suco de laranja em pó sem açúcar diluído (Clight, Mondelez International, Inc.) em 350ml de água destilada.

Para o consumo dos líquidos a voluntária recebeu uma garrafa com capacidade para 500ml vedada, com tampa e com um canudo escuro (Figura 2), impossibilitando visualizar o conteúdo da garrafa e sentir o odor. A pesquisadora responsável pelo cegamento dos sucos colocava o conteúdo de cada suco na garrafa, realizava a vedação e escrevia o nome da voluntária na garrafa.

Figura 2 - Garrafa entregue para as voluntárias



Fonte: A autora

As voluntárias tiveram 15 minutos para ingerir e para não haver nenhuma interação cruzada dos efeitos dos sucos, houve um período de *wash out* de no mínimo 5 dias entre as sessões. Durante a sessão experimental as voluntárias poderiam ingerir água, mas nenhuma outra bebida ou comida. Como preparação para a coleta elas deveriam evitar alguns alimentos e bebidas para não comprometer os resultados dos sucos e da PA, e para isso receberam uma ficha na qual descrevia os alimentos que continham nitrato e cafeína, como vegetais verdes (amaranto; alface; couve; espinafre; abobora; brócolis; aipo; couve flor; rabano chinês), beterraba ou suco de beterraba, alimentos embutidos (linguiça, mortadela, salame, salpicão, presunto, peito de peru), café, energético, refrigerantes, ou qualquer bebida alcoólica. No dia da coleta, antes das voluntárias iniciarem o repouso, era questionado se houve a ingestão de algum desses alimentos no dia anterior da coleta. Além disso elas também não poderia utilizar enxaguante bucal, para não comprometer as análises salivares.

4.5 Medidas da pressão arterial

A PA foi monitorada pelos monitores automáticos *OMRON*[®] modelo BP HEM-7113 (ASMAR *et al.*, 2010) devidamente validados e calibrados para essas medidas. Em cada momento de medida da PA foi realizada 3 vezes e foi considerada as médias para análise. Para as medidas pressóricas as voluntárias ficaram na posição sentada em um local fresco e sem nenhum estímulo visual ou sonoro. Para a primeira medida de repouso total elas ficaram 20

minutos nessa posição e para as medidas após o exercício elas poderiam realizar atividades sentadas, porém nos últimos 5 minutos que antecedessem a medida deveria ser em repouso total.

4.6 Coleta e análise de saliva

A saliva foi coletada utilizando o método cuspe (GIOLO *et al.*, 2018; NAVAZESH, 1993), e as amostras foram centrifugadas a 3500rpm, durante 20 minutos e em seguida, foram separadas em 2 microtubos de 0,5mL e armazenadas a -80 ° C até as análises.

Foi analisado na saliva a quantidade de nitrito (NO_2^-) salivar para estimar a biodisponibilidade de NO pelo método de Griess (KUROSE *et al.*, 1995). A dosagem de NO_2^- foi realizada em microplacas com 50 μL de saliva e foram determinadas a 570nm na leitora de microplacas (Molecular Devices, Menlo Park, CA, USA). O conteúdo de NO_2^- foi calculado, baseado em uma curva padrão, constituída por NANO_2 nas concentrações de 400, 200, 100, 50, 25, 12, 5, 6.25 e 3.12 μM .

4.7 Análise estatística

Para análise do cálculo amostral considerou-se como variável principal as variações da PA causadas por SB comparadas a um grupo PL, definindo variações de 5 ± 4 mmHg como valores aceitáveis de efeito (VANHATALO *et al.*, 2010), e considerando um intervalo de confiança bilateral de 95% e poder de análise de 80%, foi encontrado um n mínimo de 11 pessoas através de um software online (OpenEpi) (SULLIVAN; DEAN; SOE, 2009). Os resultados do presente estudo estão apresentados em média \pm erro padrão. O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade dos resultados, ANOVA de dois fatores para medidas repetidas para análise das variáveis de repouso pré e após o exercício e entre os tratamentos (SB, PLA, SL), com o teste post hoc de Bonferroni. A AUC pelo método trapezoidal para comparar com um único valor o comportamento temporal da PA e do NO_2^- salivar, ANOVA de um fator para análise da AUC e das sessões de exercício. Foi adotado o nível de significância de p menor que 0,05 e todas as análises foram realizadas nos softwares SPSS versão 20 e GraphPad Prism 6.

Dessa forma, os resultados serão apresentados no próximo capítulo no formato de artigo científico.

5 Resultados

A single dose of beetroot juice does not change blood pressure response mediated by acute aerobic exercise in hypertensive postmenopausal women: a cross-over, randomized, double-blind, placebo-controlled study

Ana Luiza Amaral¹, Igor Morais Mariano¹, Victor Hugo V. Carrijo¹, Tállita Cristina F. de Souza¹, Jaqueline P. Batista¹, Anne Marques Mendonça^{1,3,4,5}, Adriele Vieira de Souza², Douglas Carvalho Caixeta², Renata Roland Teixeira², Foued S. Espindola², Erick P. de Oliveira³, Guilherme Morais Puga^{1*}

¹ Laboratory of Cardiorespiratory and Metabolic Physiology, Federal University of Uberlândia, Uberlândia-MG 38400-678, Brazil.

²Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlândia, Uberlândia-MG 38400-902, Brazil.

³School of Medicine, Federal University of Uberlândia, Uberlândia-MG 38400-902, Brazil

⁴Department of Food and Human Nutritional Sciences, University of Manitoba, Winnipeg-MB, R3T 2N2, Canada

⁵ Canadian Centre for Agri-Food Research in Health and Medicine, Winnipeg-MB, R2H 2A6, Canada

** Corresponding author:*

Prof. Guilherme Morais Puga

Laboratory of Cardiorespiratory and Metabolic Physiology, Federal University of Uberlândia, Benjamin Constant, 1286, Uberlândia-MG 38400-678, Brazil.

Telefone/Fax: +55 34 32182967. E-mail: gmpuga@gmail.com

Abstract

Objective: To verify if an acute intake of beetroot juice potentiates post-exercise hypotension (PEH) in hypertensive postmenopausal women. *Methods:* 13 hypertensive postmenopausal women (58.1 ± 4.62 years and 27.4 ± 4.25 kg/m² of BMI) were recruited to participate in three experimental sessions, taking three different beverages: beetroot juice (BJ), placebo – BJ nitrate-depleted (PLA), and orange flavored non-caloric drink (OFD). The participants performed a moderate aerobic exercise training on a treadmill, at 65-70% of heart rate reserve (HRR), for 40 minutes. The protocol started at 07h, after an overnight fast, when the first resting blood pressure (BP) was measured. The beverage was ingested at 07h30 and BP was monitored until the exercise training started, at 09h30. After the end of the exercise session, BP was measured every 15 minutes over a 90-minute period. Saliva samples were collected at rest, immediately before and after exercise, and 90 minutes after exercise for nitrite (NO₂⁻) analysis. *Results:* There was an increase in salivary NO₂⁻ with BJ intake when compared to OFD and PLA. A slight increase in salivary NO₂⁻ was observed with PLA when compared to OFD ($p < 0.05$), however, PLA was still lower when compared to BJ ($p < 0.001$). There were no changes in salivary NO₂⁻ with the OFD. Systolic and diastolic BP decreased ($p < 0.001$) on all post exercise time points after all interventions, with no difference between the three beverages. *Conclusion:* Acute BJ intake does not change PEH responses in hypertensive postmenopausal women, even with increased NO₂⁻/NO bioavailability.

Keywords: Nitrite; Nitric Oxide; Hypertension; Menopause; Post Exercise Hypotension.

Introduction

There are several physiological changes in women's body during the climacteric period, including reduction of estrogen levels and menstruation cessation (menopause). As estrogen is a cardioprotective hormone [1], subsequently to its reduction, there is an increased risk of developing cardiometabolic diseases due to reduced vasodilatation, and increased blood pressure (BP), oxidative stress, and inflammation [2].

Hypertension is one of the most prevalent cardiometabolic disease after menopause [3], with the most common treatment approach being pharmacological therapy. However, changes in lifestyle, such as adequate diet and exercise, positively influence hypertension prevention and control [3]. Thus, the practice of regular physical exercise can reduce resting BP in a chronic manner, and it can also reduce blood pressure response below resting values acutely after exercise, which is called post-exercise hypotension (PEH). PEH is clinically relevant in the prevention and treatment of cardiovascular diseases, and in the reduction of cardiovascular events [4]. This cardiovascular regulatory response has been related to endothelium-derived nitric oxide (NO) [4,5]. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) is responsive to exercise-induced shear stress, reducing L-arginine to NO, which is directly involved in vascular tone regulation, homeostasis, and vascular structure control [5].

During exercise, NO release induces vasodilation and blood flow control for skeletal muscles, regulating blood pressure [5]. In addition, consumption of foods containing inorganic nitrate (NO_3^-) can increase NO bioavailability by a distinct initial mechanism. Initially, conversion of NO_3^- into NO_2^- (nitrite) occurs in the mouth and stomach, through non-enzymatic reactions, with NO_2^- then being released into the systemic circulation for subsequent NO production [6], leading to an improvement in hemodynamic regulation. Therefore, dietary nitrate may be a strategy to aid in BP regulation in target populations with increased incidence

of cardiometabolic diseases, especially when associated with exercise, since these two pathways of NO production can complement each other [6].

A common food that has a high NO_3^- concentration is beetroot, and some effects observed with beet juice (BJ) consumption are related to improvement in blood flow, vasodilation, and reduction of BP [7]. The majority of studies that investigated BJ ingestion are related to sports and exercise performance [8–11], and only a few studies explored BJ consumption in parameters of health, in non-athletic populations, such as evaluating hemodynamic parameters in patients with chronic cardiorespiratory diseases [8,12]. These results are still inconclusive, since one did not find PEH with BJ consumption [12], and the other found PEH only in diastolic BP (DBP) [8].

Therefore, the purpose of this study was to verify if BJ ingestion has additional effects on PEH after one aerobic exercise session, and its relationship with salivary NO_2^- in hypertensive postmenopausal women. Our hypothesis was that BJ would improve PEH due to an increase in NO pathway, measured by salivary NO_2^- levels.

Materials and Methods

Participants:

The study intervention took place at the Laboratory of Cardiorespiratory and Metabolic Physiology of the Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil. This study design was approved by the local Ethics Committee (70104717.0.0000.5152) and registered at Clinicaltrials.gov (NCT03620227). All participants agreed and signed an informed consent form prior to admission.

For sample calculation, BP variation caused by BJ relative to placebo (PLA) was considered as a main variable, with a variation of 5 ± 4 mmHg defined as an acceptable effect [13]. Using an online software (OpenEpi) and considering a bilateral 95% confidence interval, and a power analysis of 80%, it was found that a minimum of 11 people were needed for this

study. After the calculation, 15 volunteers were recruited to participate in this study. Participants were required to be: in post menopause (amenorrhea for at least 12 months and [FSH] > 40mIU/mL); diagnosed with hypertension, according to the 7th Brazilian Arterial Hypertension Directive [3], which is defined by baseline blood pressure values greater than or equal to 140 mmHg for systolic BP (SBP) and 90 mmHg for DBP; aged between 50 and 70 years; able to perform exercises on a treadmill. Participants could not: be in use of hormonal therapy; have history of food allergies that could compromise the study; have sensitivity to nitrate; have history of stroke or acute myocardial infarction; be diagnosed with Diabetes Mellitus; or be a smoker. Although all the volunteers used antihypertensive drugs, they could not use drugs of the β -blocker class. All participants went through a cardiological evaluation with a specialist before the intervention, obtaining a certificate to attest individual suitability for exercise practice. Exclusion criteria applied to volunteers who failed to perform the test protocol, with some of the reasons including intolerance to the exercise program, inability to ingest the juice, or inability to go through the fasting time.

The study volunteers answered both an anamnesis and a physical activity questionnaire (IPAQ short version). Anthropometric measures included: body mass (Filizola electronic scale); height (fixed stadiometer Sanny); abdominal circumference (Filizola inelastic tape); and body composition (bioimpedância Inbody 230, Seoul, Coreia do Sul), assessed as previously described [14]. For the body composition measurement, all participants were instructed not to perform vigorous physical exercise 24h before the test and to avoid alcohol and caffeine consumption 72h before the test.

Study Design:

The present study was a crossover, randomized, double blind, and placebo-controlled trial. The intervention comprised a total of three visits within a period of 10 to 21 days, with a minimum wash-out interval of 5 days. In each visit, one of the following beverages was taken:

placebo (PLA), non-caloric orange flavor drink (OFD), or Beetroot Juice (BJ). Volunteers arrived in the laboratory at 07:00 a.m. and left at 11:40 a.m. Figure 1 illustrates the experimental design of the sessions.

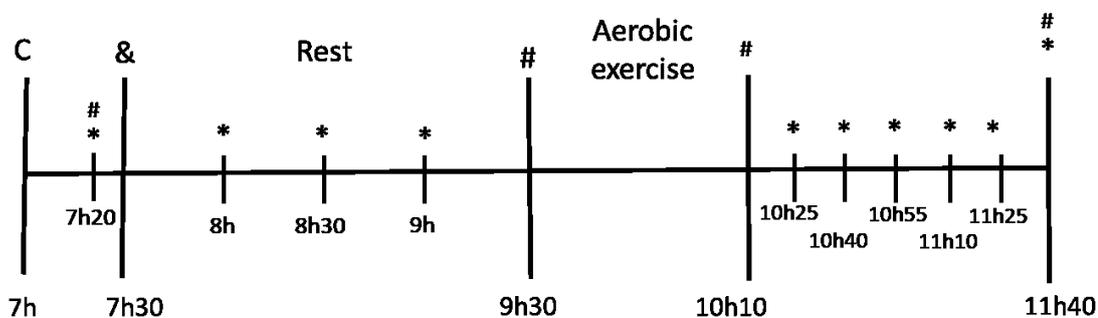


Figure 1: Experimental design of the sessions. (C) Arrival at the laboratory; (*) Blood pressure measurement; (#) Saliva sample collection; (&) Beverage intake.

During all intervention sessions, the volunteers arrived at 07:00 a.m., after 8 hours of an overnight fast. BP was measured after 20 minutes of rest in a sitting position (07:20 a.m.), every 30 minutes after the beverage intake until the beginning of the exercise (08:00 a.m., 08:30 a.m., and 09:00 a.m.), and every 15 minutes for 90 minutes after the exercise session. Unstimulated saliva samples were collected after the 20 minutes of rest (07:20 a.m.), immediately before (09:30 a.m.) and after (10:10 a.m.) exercise, and 90 minutes after the exercise session was finished (11:40 a.m.). Heart rate (HR) was measured during the 20 minutes of rest (between 07:00 a.m. and 07:20 a.m.), during the exercise, and during the 90 minutes after the exercise session (Polar®RS800CX). The beverage intake took place 10 minutes after the rest period (07:30 a.m.), allowing 15 minutes for consumption of all the beverage content. The exercise session was 40 minutes long (from 09:30 a.m. to 10:10 a.m.).

During the sessions, the volunteers were allowed to drink water, but no other drink or food ingestion was permitted. They were instructed to avoid foods and drinks rich in nitrate 24 hours before the sessions and received a list with the following consumption restrictions: green vegetables (amaranth, lettuce, cabbage, spinach, broccoli, celery, cauliflower, Chinese radish),

beetroot or its juice, sausage, salami, ham, turkey breast, coffee, energy drinks, soft drinks, alcoholic beverages, and to avoid the use of mouthwashes. Before starting each intervention session, volunteers were questioned about these items.

Physical exercise

The exercise consisted of 40 minutes of continuous moderate intensity aerobic exercise on a treadmill, allowing the first five minutes to warm-up and the last two minutes to cool down. The treadmill speed could reach 5.5km/h and the intensity increase was imposed by inclining the treadmill until the volunteer reached the zone between 65% and 70% of HR reserve (HRR) [15]. For the HRR calculation, we used the formula: maximum HR – resting HR. For the participants resting HR, we considered the minimum HR measured during the initial 20 minutes of rest on the first intervention day, and the maximum HR was estimated by the formula: 220-age.

HR was monitored during the exercise and the Borg Scale [16] was used to assess the subjective perception of exertion (RPE) for both dyspnea and lower limb fatigue. The measurements for HR and RPE were assessed every two minutes. Whenever the HR was found to be outside of the stipulated zone, the exercise load was readjusted.

Intake of beetroot juice and placebo

The intervention included three different juices: BJ, PLA and OFD, with one beverage assigned to each intervention session. The order of beverage intake was randomly assigned for each of the volunteers. A researcher who did not participate in the data collection process was responsible for blinding the drinks, adding each drink to its respective bottle labeled with the volunteer's name.

The BJ was prepared using 35 ml of nitrate concentrated beetroot juice containing 400 mg of nitrate (Beet-It Sport Shot, James White Drinks Ltd., Ipswich, UK), which was diluted in 315ml of distilled water with 6 grams of non-caloric orange juice flavored powder (Clight,

Mondelez International, Inc.), totalizing 350ml of juice (20.78mmol/kg). The PLA (3.86mmol/kg) was prepared by filtering the BJ on an ion exchange resin capable of depleting the NO_3^- (PA101 OH-, Permution®) [17], similarly to a previous report [18]. Lastly, the OFD was a non-caloric orange flavored drink, prepared using 3 grams of orange juice powder diluted in 350ml of distilled water. Each volunteer received the designated drink in a sealed bottle with a lid and a dark straw, making it impossible to visualize or smell the bottle content. The study participants had 15 minutes to drink the entire beverage.

Measurements of blood pressure

BP was measured in a sitting position, without visual or sound stimulation, using OMRON® BP HEM-7113 automatic monitors. Prior to BP measurement, 20 minutes of rest was required. BP was measured three times, always in the left arm, and the mean was calculated for data analysis.

Salivary samples collection and analysis

Saliva samples were collected using the spit method [19]. All samples were centrifuged at 3000rpm for 15 minutes, the supernatant was separated and stored at -80°C until analysis. The nitrite (NO_2^-) concentration was used to estimate the bioavailability of NO by the Griess method [20].

Statistical analysis

All statistical analyses were completed blindly regarding the ingested beverage. Results are presented as mean \pm standard deviation. The Shapiro-Wilk test was applied to verify data normality, and two-way ANOVA was used to analyze differences between the time points (pre and post exercise) and the treatments (PLA, OFD, BJ), using the Bonferroni post hoc when necessary. The area under the curve (AUC) by the trapezoidal method was used to compare the temporal changes of BP and salivary NO_2^- , separately. One-way ANOVA was used for AUC and exercise analysis, and a Pearson correlation was used to assess BP and nitrite effects. A

significance level of $p < 0.05$ was established. All analysis were performed using SPSS version 20 and GraphPad Prism 6.

Results

This study was completed by 13 postmenopausal women (two of the 15 volunteers who started were excluded due to protocol intolerance) who were overweight, medically treated for hypertension, and physically active. The general characteristics of the volunteers are described in *Table 1*. There was no difference in exercise intensity between the sessions. For PLA, OFD, and BJ sessions, the HR mean was 125.6 ± 7.2 ; 126.1 ± 7.8 ; 126.7 ± 7.4 bpm ($p = 0.658$); the treadmill inclination was 3.4 ± 3.0 ; 3.5 ± 2.7 ; $3.3 \pm 2.7\%$ ($p = 0.715$); the RPE of dyspnea was 3.7 ± 0.85 ; 3.4 ± 1.0 ; 3.4 ± 1.0 ($p = 0.328$); and the RPE of lower limb fatigue was 4.1 ± 1.2 ; 3.9 ± 1.12 ; 3.8 ± 1.1 ($p = 0.642$), respectively.

Table 1. General characteristics of the participants. BMI: Body mass index.

General features ($\mu \pm SD$)	
Age (years)	58.1 \pm 4.6
Body mass (kg)	69.9 \pm 9.2
Height (m)	1.57 \pm 0.05
BMI (kg/m ²)	27.4 \pm 4.2
Waist circumference (cm)	92.9 \pm 11.7
Body fat (%)	37.3 \pm 6.2
Fat mass (kg)	26.1 \pm 6.9
Lean mass (kg)	29.9 \pm 9.2
Physical activity level	
Very Active	2 (15%)
Active	8 (62%)
Irregularly Active	3 (23%)
Drugs	
Angiotensin 1 Receptor Blockers + Diuretic	6 (46%)
Angiotensin 1 Receptor Blockers	4 (31%)
Diuretic	1 (8%)
Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor	1 (8%)
Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor + Diuretic	1 (8%)
Statins	3 (23%)
Levothyroxine	4 (31%)

Figure 2 illustrates the results for salivary NO₂⁻. All sessions had similar values for salivary nitrite at rest. Before exercise, salivary nitrite was slightly increased (1.0mM) by PLA and greatly increased by BJ (2.6mM) ($p < 0.05$), while the values remained at a low level with

OFD intake (0.1mM). BJ lead to the highest salivary NO_2^- level (3.3mM) immediately after exercise when compared to the other beverages (PLA 0.9; OFD 0.1mM) ($p < 0.01$). Furthermore, salivary nitrite remained increased for up to 90 minutes post exercise with BJ intake when compared to rest (REST= 0.1 ± 0.1 ; POST 0'= 3.3 ± 1.3 ; POST 90'= 2.5 ± 1.1 mM; $p < 0.001$), but with PLA salivary nitrite was only increased until immediately after exercise when compared to rest (REST= 0.2 ± 0.1 ; POST 0'= 0.9 ± 0.6 ; POST 90'= 0.7 ± 0.4 mM; $p = 0.011$). The AUC for NO_2^- response over time was the highest with BJ when compared to both PLA and OFD ($p < 0.01$), however the response was still higher with PLA when compared to OFD ($p = 0.037$). There was no correlation between salivary NO_2^- and BP (SBP $p = 0.749$, $r = 0.053$; DBP $p = 0.618$, $r = -0.082$).

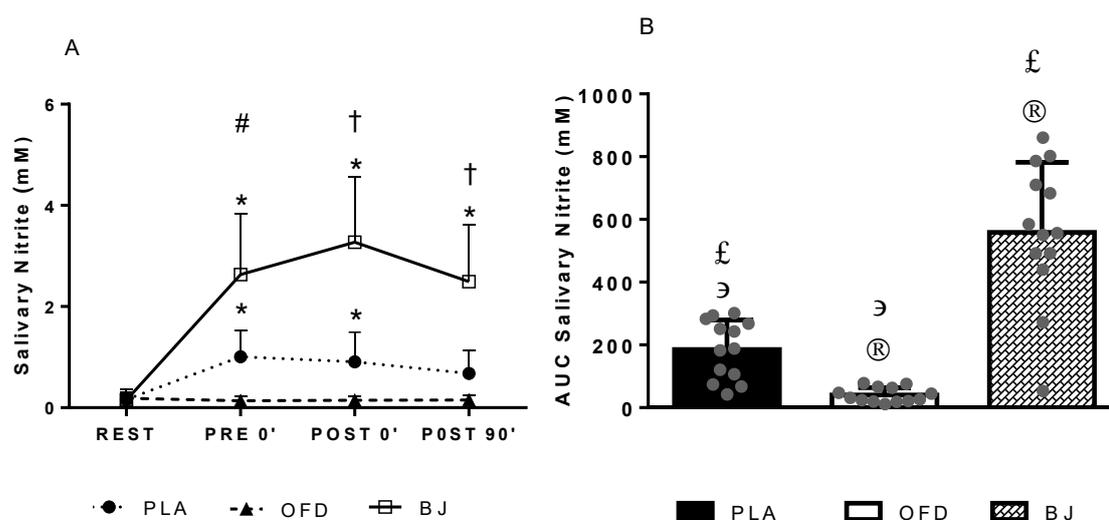


Figure 2: Salivary nitrite values from point to point (A) and values for the area under the curve (AUC) (B). Beet juice with depleted nitrate (PLA); Non-caloric orange flavor drink (OFD); Beet juice (BJ). (#) significantly different between all sessions; (†) significantly different when comparing BJ with both PLA and OFD; (*) significantly different when compared to rest (REST); (®) significantly different when compared to PLA; (‡) significantly different when compared to BJ; (£) significantly different when compared to OFD.

Figure 3 shows the SBP, DBP and HR responses throughout the experimental sessions. SBP increased after beverage consumption when compared to rest ($p=0.001$) and decreased after exercise when compared to both rest and post ingestion time points. DBP also increased after beverage intake ($p=0.001$) and decreased in the three following time points after exercise when compared to rest ($p=0.005$). All DBP values decreased after exercise when compared to the pre-exercise value ($p=0.001$). An increase in HR was observed after exercise when compared to rest ($p=0.001$). There was no difference for SBP, DBP or HR between the three experimental sessions ($p=1.000$).

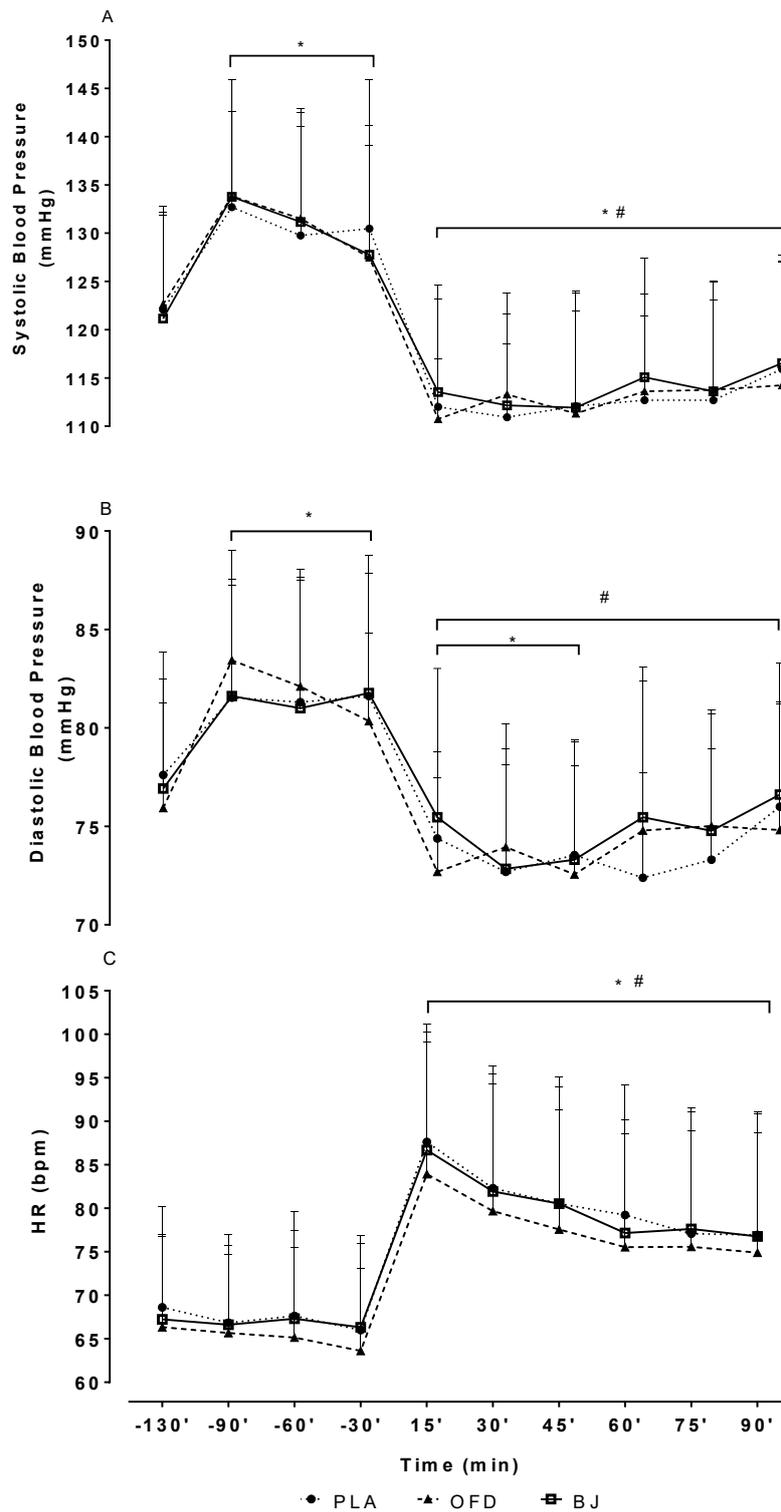
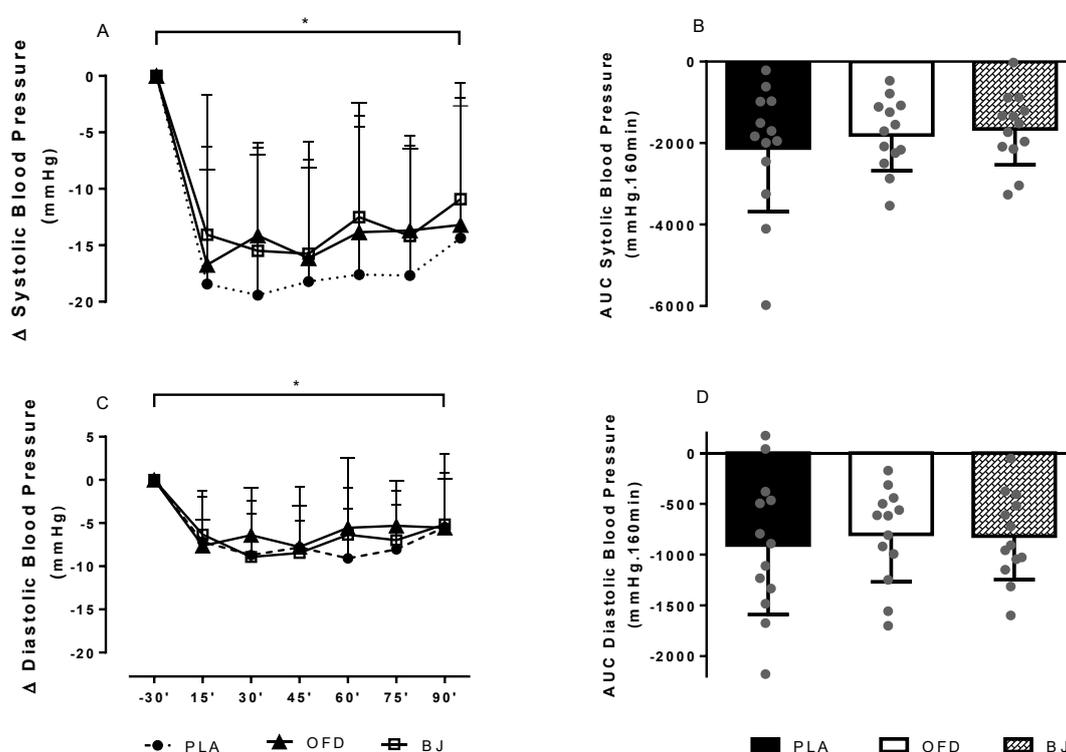


Figure 3: Systolic blood pressure (A); diastolic blood pressure (B) and point-to-point heart rate (C). Beet juice with depleted nitrate (PLA); Non-caloric orange flavor drink (OFD); Beet juice (BJ). The negative time values refer to HR measurements before exercise. The positive time values refer to measurements after

the exercise. (*) significantly different when compared to the -130' timepoint (resting pre-ingestion); (#) significantly different when compared to the -90', -60', -30' timepoints (post juice intake).

Figure 4 demonstrates the BP variation after exercise in comparison with the BP measured at rest (before the exercise) and its respective AUC. SBP and DBP decreased in all evaluated time points post-exercise ($p < 0.001$). No difference for the AUC was observed among sessions ($p = 1.000$).



Figure

4: Δ values for systolic blood pressure variation (A) and diastolic blood pressure variation (C), area under the curve (AUC) for systolic blood pressure (B) and for diastolic blood pressure (D). Beetroot juice with depleted nitrate (PLA); Non-caloric orange flavor drink (OFD); Beetroot juice (BJ). The negative time values refer to measurements before exercise. The positive time values refer to measurements after the exercise. (*) significantly different when compared to the -30' point (pre-exercise).

Discussion

The hypothesis underlying this study was that an increase in NO_2^- due to BJ intake would enhance NO bioavailability, consequently increasing vasodilation and improving BP reduction mediated by exercise in hypertensive postmenopausal women. The main findings of the study were that a moderate-intensity aerobic exercise session was sufficient to cause PEH, and that acute BJ intake did not lead to additional effects on PEH, even though NO bioavailability was enhanced, as demonstrated by increased salivary NO_2^- .

To the best of our knowledge, this is the first study with hypertensive postmenopausal women analyzing acute intake of BJ and its influence on BP. Several other different interventions using BJ intake have been completed with distinct populations. Previous studies have investigated chronic [13] and acute BJ ingestion [13], in athletes [9–11], in healthy non-athletes [21], and in patients in disease states [8,12]. BJ consumption has been analyzed combined with exercise [13,22] and without exercise [23]. Usually, the primary objective of these studies is to evaluate the oxygen consumption and blood flow [13], associated with analysis of plasma or salivary NO_2^- . Although BJ supplementation may cause a significant reduction in BP and this is usually evaluated as a secondary outcome, we can still cross-compare these studies with ours.

A recent review [6] discussed different study designs for BJ intervention and blood pressure response in non-athlete populations. A meta-analysis showed that elderly people had worse hypotensive responses [24], however, this is not a consensus, since another meta-analysis [7] showed an opposite effect. Other characteristics that may influence these results are both sex (women have less evident responses) and BP level at baseline. In this sense, the present study included middle age to elderly women (58.1 ± 4.6 years), which despite being hypertensive, had BP medically controlled at baseline. Therefore, these characteristics may have collaborated to mitigate the hypotensive effects of BJ.

In a previous study with hypertensive patients with chronic obstructive pulmonary disease [8], there was a hypotensive effect in DBP 3 hours after BJ ingestion containing 12.9mmoles of NO_3^- . Differently from the present study, they did not assess BJ consumption in combination with exercise and they used a lower dose of NO_3^- in BJ, in a population with compromised cardiorespiratory capacity. In another study [12], patients with insufficient cardiac output using antihypertensive drugs ingested 140 ml of BJ containing 11.2 mmol of NO_3^- and performed a 6 min walk, a maximal strength, and a fatigue test. Despite evaluating BP post-exercise, they did not find a hypotensive effect associated with exercise or BJ supplementation. It should be noted that this evaluation occurred only 10 minutes after exercise, and the exercise protocol had more similarities to resistance exercise of high relative intensity. These characteristics differ greatly from the present study and may explain the absence of PEH, since this effect is better evidenced post aerobic exercise [25].

After exercise, local vasodilatory mechanisms contribute to BP reduction, leading to a sustained vasodilatation response [4]. There are studies showing that NO might have this effect, even though this is not the main cause of PEH [8]. NO is considered a potential contributor to sustained post-exercise vasodilatation and could be involved in PEH. It is known that shear stress and activation of endothelial receptors cause NO release by eNOS and that the capacity of this pathway depends on the interaction of neuropeptide and mechanical stimuli [26]. PEH is more evident after moderate intensity aerobic exercise in people with hypertension [27]. Considering that the initial level of BP is one of the factors that determines the magnitude of PEH [27,28], the use of antihypertensive drugs before exercise could mitigate this response. However, we found a PEH response even with antihypertensive drug use, which highlights the importance of exercise even in hypertensive patients under pharmacological therapy.

Additionally, local vasodilatory response is not the only mechanism justifying PEH, and there might be other reasons to the existence of this phenomenon in a systemic way. Halliwill

et al. [4] highlighted the possible explanations to PEH as: an adjustment of the baroreflex control to maintain a lower BP after exercise; a reduction in sympathetic nerve activity; a thermoregulatory readjustment; a vasodilation caused by release of NO and prostaglandins, which also cause reduction in α -adrenergic sensitivity; and a vasodilation caused by the action of histamines. Interestingly, BJ has a notable influence on the bioavailability of NO, and although this pathway does not seem to be the most important cause of PEH [4], some studies have shown that BJ intake can decrease BP [8,13,22,29]. Therefore, there is a possibility that increasing NO bioavailability by BJ consumption could change BP response. However, when simultaneous with other mechanisms (i.e. PEH) there might be a blockage or limitation that does not allow a significant additional effect in BP reduction.

It is important to consider that postmenopausal women have an increase in oxidative stress, which impairs vascular cell integrity and causes negative changes in the activity of antioxidant enzymes, mainly due to the reduction in estrogen synthesis [30]. Furthermore, the impairment of oxidative balance has an important role in the pathogenesis of hypertension and may lead to impaired endothelium-dependent relaxation capacity [31]. This decrease in relaxation capacity is associated with decreased NO production, increased cyclooxygenase-2 (COX-2) expression, and increased nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH oxidase), which are enzymes involved in stimulating the production of reactive oxygen species [31]. Thus, hypertensive women after menopause, have compromised blood vessel integrity, supposedly having more difficult responses to endothelial stimulus [31]. Ingestion of BJ [32] is a clinically valid strategy to reduce oxidative imbalance in this population, to increase the availability of antioxidant enzymes and blood flow, and to improve vascular relaxation dependent on shear stress.

A study [18] compared the responses to BJ intake in plasma, saliva, and urine and found that saliva is more sensitive to NO_3^- , with the NO_2^- concentration increasing seven times in

saliva, three times in plasma, and four times in urine when compared to placebo. This is probably because the initial conversion of NO_3^- to NO occurs in the mouth by salivary components [18,33]. In agreement with these findings, in the current study there was a slight increase in salivary NO_2^- with PLA intake, showing that even with the low concentration of NO_3^- present in PLA, saliva is sensitive enough to respond to this stimulus [18].

Based on our results, there are other possibilities to explain the lack of an additional effect on PEH with BJ intake. First, the bioavailability of NO may not be the main cause of PEH, and other factors involved in PEH were not evaluated in the present study, such as baroreflex activity, and vasodilatation caused by other substances such as histamines and prostaglandins [4]. Second, acute BJ intake may not be enough to cause positive responses in this population, therefore long-term studies are warranted.

This study had some limitations. BJ intake and BP measurements were assessed in a short-term, thus, our results cannot be extrapolated to chronic settings, and blood flow was not measured. Our results suggest that moderate aerobic exercise is a good strategy to induce PEH and may be included in hypertension treatment, but only one dose of BJ is not efficient to cause an additional effect.

Conclusion

In conclusion, acute intake of beetroot juice does not change BP response mediated by moderate intensity aerobic exercise in hypertensive postmenopausal women, even though there is an increase in the bioavailability of salivary NO_2^-/NO .

References

- [1] Lagranha CJ, Silva TLA, Silva SCA, Braz GRF, da Silva AI, Fernandes MP, et al. Protective effects of estrogen against cardiovascular disease mediated via oxidative stress in the brain. *Life Sci* 2018;192:190–8. doi:10.1016/j.lfs.2017.11.043.
- [2] Coylewright M, Reckelhoff JF, Ouyang P. Menopause and Hypertension An Age-Old Debate. *Hypertension* 2008;51:952–9. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.105742.

- [3] Malachias M, Souza W, Plavnik F, Rodrigues C, Brandão A, Neves M, et al. 7a Diretriz Brasileira De Hipertensão Arterial. *Arq. Bras. Cardiol.*, vol. 107, 2016. doi:10.5935/abc.2013S010.
- [4] Halliwill JR, Buck TM, Lacewell AN, Romero SA. Postexercise hypotension and sustained postexercise vasodilatation: what happens after we exercise? *Exp Physiol* 2013;98:7–18. doi:10.1113/expphysiol.2011.058065.
- [5] Farah C, Nascimento A, Bolea G, Meyer G, Gayraud S, Lacampagne A, et al. Key role of endothelium in the eNOS-dependent cardioprotection with exercise training. *J Mol Cell Cardiol* 2017;102:26–30. doi:10.1016/j.yjmcc.2016.11.008.
- [6] Ocampo DAB, Paipilla AF, Marín E, Vargas-Molina S, Petro JL, Pérez-Idárraga A. Dietary Nitrate from Beetroot Juice for Hypertension: A Systematic Review. *Biomolecules* 2018:1–12. doi:10.3390/biom8040134.
- [7] Bahadoran Z, Mirmiran P, Kabir A, Azizi F, Ghasemi A. The Nitrate-Independent Blood Pressure-Lowering Effect of Beetroot Juice: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Nutr* 2017;8:830–8. doi:10.3945/an.117.016717.
- [8] Curtis KJ, O'Brien KA, Tanner RJ, Polkey JI, Minnion M, Feelisch M, et al. Acute dietary nitrate supplementation and exercise performance in COPD: A double-blind, placebo-controlled, randomised controlled pilot study. *PLoS One* 2015;10:1–18. doi:10.1371/journal.pone.0144504.
- [9] Lansley KE, Winyard PG, Bailey SJ, Vanhatalo A, Wilkerson DP, Blackwell JR, et al. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. *Med Sci Sports Exerc* 2011;43:1125–31. doi:10.1249/MSS.0b013e31821597b4.
- [10] Thompson C, Vanhatalo A, Jell H, Fulford J, Carter J, Nyman L, et al. Dietary nitrate supplementation improves sprint and high-intensity intermittent running performance. *Nitric Oxide* 2016;61:55–61. doi:10.1016/j.niox.2016.10.006.
- [11] Clifford T, Berntzen B, Davison GW, West DJ, Howatson G, Stevenson EJ. Effects of beetroot juice on recovery of muscle function and performance between bouts of repeated sprint exercise. *Nutrients* 2016;8. doi:10.3390/nu8080506.
- [12] Coggan AR, Leibowitz JL, Spearie CA, Kadkhodayan A, Thomas DP, Ramamurthy S, et al. Acute Dietary Nitrate Intake Improves Muscle Contractile Function in Patients with

Heart Failure: A Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Trial. *Circ Hear Fail* 2015;8:914–20. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002141.

[13] Vanhatalo A, Bailey SJS, Blackwell JRJ, DiMenna FJF, Pavey TG, Wilkerson DP, et al. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;299:R1121–31. doi:10.1152/ajpregu.00206.2010.

[14] Barbosa CD, Costa JG, Giolo JS, Rossato LT, Nahas PC, Mariano IM, et al. Isoflavone supplementation plus combined aerobic and resistance exercise do not change phase angle values in postmenopausal women: A randomized placebo-controlled clinical trial. *Exp Gerontol* 2019;117:31–7. doi:10.1016/j.exger.2018.08.007.

[15] Karvonen MJ, Kentala E, Mustala O. The effects of training on heart rate; a longitudinal study. *Ann Med Exp Biol Fenn* 1957;35:307–15.

[16] Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:377–81.

[17] Castro TF de, Manoel F de A, Figueiredo DH, Figueiredo DH, Machado FA. Effect of beetroot juice supplementation on 10-km performance in recreational runners. *Appl Physiol Nutr Metab* 2018. doi:10.1139/apnm-2018-0277.

[18] Bondonno CP, Liu AH, Croft KD, Ward NC, Shinde S, Moodley Y, et al. Absence of an effect of high nitrate intake from beetroot juice on blood pressure in treated hypertensive individuals: A randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2015;102:368–75. doi:10.3945/ajcn.114.101188.

[19] Navazesh M. Methods for Collecting Saliva. *Ann N Y Acad Sci* 1993;694:72–7. doi:10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x.

[20] Kurose I, Wolf R, Grisham MB, Granger DN. Effects of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis on postcapillary venules. *Am J Physiol* 1995;268.

[21] Jr VB, Curry BH, Adams RG, Haddad GE. Cardiorespiratory function associated with dietary nitrate supplementation. *Appl Physiol Nutr Metab* 2014;39:168–72. doi:10.1139/apnm-2013-0263.

- [22] Berry MJ, Justus NW, Hauser JI, Case AH, Helms CC, Basu S, et al. Dietary nitrate supplementation improves exercise performance and decreases blood pressure in COPD patients. *Nitric Oxide - Biol Chem* 2015;48:22–30. doi:10.1016/j.niox.2014.10.007.
- [23] Hohensinn B, Haselgrübler R, Müller U, Stadlbauer V, Lanzerstorfer P, Lirk G, et al. Sustaining elevated levels of nitrite in the oral cavity through consumption of nitrate-rich beetroot juice in young healthy adults reduces salivary pH. *Nitric Oxide - Biol Chem* 2016;60:10–5. doi:10.1016/j.niox.2016.08.006.
- [24] Siervo M, Lara J, Jajja A, Sutyarjoko A, Ashor AW, Brandt K, et al. Ageing modifies the effects of beetroot juice supplementation on 24-hour blood pressure variability: An individual participant meta-analysis. *Nitric Oxide - Biol Chem* 2015;47:97–105. doi:10.1016/j.niox.2015.04.007.
- [25] Cornelissen VA, Smart NA. Exercise Training for Blood Pressure: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Am Heart Assoc* 2013;2:e004473–e004473. doi:10.1161/JAHA.112.004473.
- [26] Quillon A, Fromy B, Debret R. Endothelium microenvironment sensing leading to nitric oxide mediated vasodilation: A review of nervous and biomechanical signals. *Nitric Oxide - Biol Chem* 2015;45:20–6. doi:10.1016/j.niox.2015.01.006.
- [27] Gomes Anunciação P, Doederlein Polito M. A review on post-exercise hypotension in hypertensive individuals. *Arq Bras Cardiol* 2011;96:e100–9. doi:10.1136/hrt.2009.186593.
- [28] Reboussin DM, Allen NB, Griswold ME, Guallar E, Hong Y, Lackland DT, et al. Systematic Review for the 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2176–98. doi:10.1016/j.jacc.2017.11.004.
- [29] Wylie LJ, Kelly J, Bailey SJ, Blackwell JR, Skiba PF, Winyard PG, et al. Beetroot juice and exercise: pharmacodynamic and dose-response relationships. *J Appl Physiol* 2013;115:325–36. doi:10.1152/jappphysiol.00372.2013.
- [30] Jarrete AP, Novais IP, Nunes HA, Puga GM, Delbin MA, Zanesco A. Influence of aerobic exercise training on cardiovascular and endocrine-inflammatory biomarkers in

hypertensive postmenopausal women. *J Clin Transl Endocrinol* 2014;1:108–14. doi:10.1016/j.jcte.2014.07.004.

[31] Korsager Larsen M, Matchkov V V. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Med* 2016;52:19–27. doi:10.1016/j.medic.2016.01.005.

[32] Clifford T, Howatson G, West DJ, Stevenson EJ. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients* 2015;7:2801–22. doi:10.3390/nu7042801.

[33] Bedale W, Sindelar JJ, Milkowski AL. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. *Meat Sci* 2016;120:85–92. doi:10.1016/j.meatsci.2016.03.009.

Supplementary data

Report of NO₃- analysis on beet juice samples

RELATÓRIO DE ENSAIO No.: 81961
Página 1 / 1

SOLICITANTE

Solicitante.: UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

CNPJ/IE: 25.648.387/0001-18

Endereço: RUA BENJAMIN CONSTANT, 1286 CEP: 38400678 Bairro: APARECIDA Cidade: UBERLÂNDIA - MG

Responsável: GUILHERME

AMOSTRA E RECEBIMENTO

Descrição da amostra: Suco

Fabricação: NI

Validade: 31/12/2018

Lote: 13:15 L18

Lacre: NI

Marca: NI

Local da Amostragem: -

Data/Hora Amostragem: 28/11/2018 15:00

Data/hora recebimento: 10/12/2018 08:00

Temperatura do Recebimento: 7,0 °C

Nome Comercial: Suco

OBSERVAÇÕES

SUCO DE BÊTERRABA 5

O Plano de Amostragem é de responsabilidade do cliente.

ENSAIO	RESULTADO	UNIDADE	LQ	MÉTODO	INÍCIO	FIM
Nitrato	1.275,75	mg/Kg	30,9	IAL - 4ª EDIÇÃO	17/12/2018	19/12/2018

MÉTODOS

Instituto Adolfo Lutz - 4ª Edição de 2005.

Thiago A. Montanari Ribeiro
Thiago A. Montanari Ribeiro
Físico-Químico Titular
Laboratório de Análises Ambientais

Data de Emissão: 21/12/2018

VMP - valor máximo permitido / LQ: limite de quantificação / NI: não informado / ND: não detectado / NA: não se aplica / * Ensaio subcontratado.
Os resultados são restritos às amostras analisadas. A Amostra permanecerá disponível por 7 dias após emissão deste Relatório. Reprodução de partes requer aprovação do laboratório.
A incerteza de medição foi estimada e está disponível para consulta no laboratório. As opiniões e interpretações não fazem parte do escopo da acreditação deste laboratório.



RELATÓRIO DE ENSAIO No.: 81963

Página 1 / 1

SOLICITANTE

Solicitante.: UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

CNPJ/IE: 25.648.387/0001-18

Endereço: RUA BENJAMIN CONSTANT, 1286 CEP: 38400678 Bairro: APARECIDA Cidade: UBERLÂNDIA - MG

Responsável: GUILHERME

AMOSTRA E RECEBIMENTO

Descrição da amostra: Suco

Fabricação: NI

Validade: 31/12/2018

Lote: 13:15 L18

Lacre: NI

Marca: NI

Local da Amostragem: -

Data/Hora Amostragem: 04/12/2018 15:00

Data/hora recebimento: 10/12/2018 08:00

Temperatura do Recebimento: 7,0 °C

Nome Comercial: Suco

OBSERVAÇÕES

SUCO DE BETERRABA 7

O Plano de Amostragem é de responsabilidade do cliente.

ENSAIO	RESULTADO	UNIDADE	LQ	MÉTODO	INÍCIO	FIM
Nitrato	1.300,00	mg/Kg	30,9	IAL - 4ª EDIÇÃO	17/12/2018	19/12/2018

MÉTODOS

Instituto Adolfo Lutz - 4ª Edição de 2005.

Thiago A. Marmontini Lopes
 Thiago A. Marmontini Lopes
 Responsável Técnico
 IAL - Uberlândia

Data de Emissão: 21/12/2018

VMP - valor máximo permitido / LQ: limite de quantificação / NI: não informado / ND: não detectado / NA: não se aplica / * Ensaio subcontratado.
 Os resultados são restritos às amostras analisadas. A Amostra permanecerá disponível por 7 dias após emissão deste Relatório. Reprodução de partes requer aprovação do laboratório.
 A incerteza de medição foi estimada e está disponível para consulta no laboratório. As opiniões e interpretações não fazem parte do escopo da acreditação deste laboratório.

Report of NO₃⁻ analysis in placebo samples

RELATÓRIO DE ENSAIO No.: 81962

Página 1 / 1

SOLICITANTE

Solicitante.: UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

CNPJ/IE: 25.648.387/0001-18

Endereço: RUA BENJAMIN CONSTANT, 1286 CEP: 38400678 Bairro: APARECIDA Cidade: UBERLÂNDIA - MG

Responsável: GUILHERME

AMOSTRA E RECEBIMENTO

Descrição da amostra: Suco

Fabricação: NI

Validade: 31/12/2018

Lote: 13:15 L18

Lacre: NI

Marca: NI

Local da Amostragem: -

Data/Hora Amostragem: 28/11/2018 15:00

Data/hora recebimento: 10/12/2018 08:00

Temperatura do Recebimento: 7,0 °C

Nome Comercial: Suco

OBSERVAÇÕES

SUCO DE BÉTERRABE FILTRADO EM RESINA DE TROCA ANIÔNICA 6

O Plano de Amostragem é de responsabilidade do cliente.

ENSAIO	RESULTADO	UNIDADE	LQ	MÉTODO	INÍCIO	FIM
Nitrato	252,06	mg/Kg	3,9	IAL - 4ª EDIÇÃO	17/12/2018	19/12/2018

MÉTODOS

Instituto Adolfo Lutz - 4ª Edição de 2005.

Yviana A. Marmentini Lopes
Yviana A. Marmentini Lopes
Responsável Técnico
Lutz - 00000000

Data de Emissão: 21/12/2018

VMP - valor máximo permitido / LQ: limite de quantificação / NI: não informado / ND: não detectado / NA: não se aplica / * Ensaio subcontratado.
Os resultados são restritos às amostras analisadas. A Amostra permanecerá disponível por 7 dias após emissão deste Relatório. Reprodução de partes requer aprovação do laboratório.
A incerteza de medição foi estimada e está disponível para consulta no laboratório. As opiniões e interpretações não fazem parte do escopo da acreditação deste laboratório.



RELATÓRIO DE ENSAIO No.: 81964

Página 1 / 1

SOLICITANTE

Solicitante.: UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLANDIA

CNPJ/IE: 25.648.387/0001-18

Endereço: RUA BENJAMIN CONSTANT, 1286 CEP: 38400678 Bairro: APARECIDA Cidade: UBERLANDIA - MG

Responsável: GUILHERME

AMOSTRA E RECEBIMENTO

Descrição da amostra: Suco

Fabricação: NI

Validade: 31/12/2018

Lote: 13:15 L18

Lacre: NI

Marca: NI

Local da Amostragem: -

Data/Hora Amostragem: 04/12/2018 15:00

Data/hora recebimento: 10/12/2018 08:00

Temperatura do Recebimento: 7,0 °C

Nome Comercial: Suco

OBSERVAÇÕES

SUCO DE BETERRABA FILTRADO EM RESINA DE TROCA ANIÔNICA 8

O Plano de Amostragem é de responsabilidade do cliente.

ENSAIO	RESULTADO	UNIDADE	LQ	MÉTODO	INÍCIO	FIM
Nitrato	225,65	mg/Kg	30,9	IAL - 4ª EDIÇÃO	17/12/2018	19/12/2018

MÉTODOS

Instituto Adolfo Lutz - 4ª Edição de 2005.

Thiago A. Marmontini Lopes
 Thiago A. Marmontini Lopes
 Responsável Técnico
 IAL - Uberlândia

Data de Emissão: 21/12/2018

VMP - valor máximo permitido / LQ: limite de quantificação / NI: não informado / ND: não detectado / NA: não se aplica / * Ensaio subcontratado.
 Os resultados são restritos às amostras analisadas. A Amostra permanecerá disponível por 7 dias após emissão deste Relatório. Reprodução de partes requer aprovação do laboratório.
 A incerteza de medição foi estimada e está disponível para consulta no laboratório. As opiniões e interpretações não fazem parte do escopo da acreditação deste laboratório.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Adriana U. *et al.* Desenvolvimento e estado nutricional da beterraba em função da omissão de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, p. 292–295, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362008000200033>
Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/3328>. Acesso em: 20 ago. 2018.
- ANTUNES, Susana; MARCELINO, Ofélia; AGUIAR, Tereza. Fisiopatologia da menopausa. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 19, n. 4, p. 353–357, 2003.
DOI: <http://dx.doi.org/10.32385/rpmgf.v19i4.9957>
Disponível em:
[http://www.rpmgf.pt/ojs/index.php?journal=rpmgf&page=article&op=view&path\[\]=9957](http://www.rpmgf.pt/ojs/index.php?journal=rpmgf&page=article&op=view&path[]=9957).
Acesso em: 20 ago. 2018.
- ASHOR, Ammar W.; LARA, Jose; SIERVO, Mario. Medium-term effects of dietary nitrate supplementation on systolic and diastolic blood pressure in adults: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Hypertension**, London, v. 35, n. 7, p. 1353–1359, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000001305>
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28319596>. Acesso em: 20 Ago. 2018.
- ASHOR, Ammar, *et al.* Exercise modalities and endothelial function: a systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. **Sports medicine**, Philadelphia, c1982-, v. 45, n. 2, p. 279–96, fev. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s40279-014-0272-9>
Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25281334>. Acesso em: 20 ago. 2018.
- ASMAR, Roland *et al.* Validation of three automatic devices for self-measurement of blood pressure according to the International Protocol: The Omron M3 Intellisense (HEM-7051-E), the Omron M2 Compact (HEM 7102-E), and the Omron R3-I Plus (HEM 6022-E). **Blood pressure monitoring**, London, v. 15, n. 1, p. 49–54, fev. 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MBP.0b013e3283354b11>
Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20032779>. Acesso em: 20 ago. 2018.
- BAHADORAN, Zahra *et al.* The Nitrate-Independent Blood Pressure-Lowering Effect of Beetroot Juice: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Advances in nutrition**, Bethesda, v. 8, n. 6, p. 830–838, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3945/an.117.016717>
Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29141968> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5683004>. Acesso em: 20 ago. 2018.
- BEDALE, Wendy; SINDELAR, Jeffrey J.; MILKOWSKI, Andrew L. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. **Meat Science**, Barking, v. 120, p. 85–92, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.009>
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174016300638>.
Acesso em: 20 ago. 2018.
- BETTERIDGE, Scott *et al.* No effect of acute beetroot juice ingestion on oxygen consumption, glucose kinetics, or skeletal muscle metabolism during submaximal exercise in males. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 120, n. 4, p. 391–398, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00658.2015>

Disponível em: <http://jap.physiology.org/lookup/doi/10.1152/japplphysiol.00658.2015>. Acesso em: 20 ago. 2018.

BONDONNO, Catherine P. *et al.* Absence of an effect of high nitrate intake from beetroot juice on blood pressure in treated hypertensive individuals: A randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 102, n. 2, p. 368–375, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.114.101188>

BORG, Gunnar. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and science in sports and exercise**, Madison, v. 14, n. 5, p. 377–81, 1982. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7154893>. Acesso em: 20 ago. 2018.

CARVALHO, Raphael Santos Teodoro De *et al.* Hypotensive Response Magnitude and Duration in Hypertensives: Continuous and Interval Exercise. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo. p. 234–241, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20140193>
Disponível em: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/abc.20140193>. Acesso em: 20 ago. 2018.

CASTRO, Talitha Fernandes, *et al.* Effect of beetroot juice supplementation on 10-km performance in recreational runners. **Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolism**, Ottawa, 9 jul. 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/apnm-2018-0277>
Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29986146>. Acesso em: 20 ago. 2018.

CERQUEIRA, Nereide Freire; YOSHIDA, Winston Bonetti. Óxido Nítrico: Revisão. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v. 17, n. 6, p. 417–423, 2002.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502002000600011>
Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502002000600011&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 20 Ago. 2018.

CLIFFORD, Tom *et al.* The effects of beetroot juice supplementation on indices of muscle damage following eccentric exercise. **European Journal of Applied Physiology**, Heidelberg, v. 116, n. 2, p. 353–362, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-015-3290-x>
Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00421-015-3290-x>. Acesso em: 20 ago. 2018.

COTE, Anita T. *et al.* Greater autonomic modulation during post-exercise hypotension following high-intensity interval exercise in endurance-trained men and women. **European Journal of Applied Physiology**, Heidelberg, v. 115, n. 1, p. 81–89, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-014-2996-5>
Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00421-014-2996-5>. Acesso em: 20 ago. 2018.

COYLEWRIGHT, Megan; RECKELHOFF, Jane F.; OUYANG, Pamela. Menopause and Hypertension An Age-Old Debate. **Hypertension**, v. 51, n. 4, p. 952–959, abr. 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.105742>

Disponível em:

<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.105742> . Acesso em: 20 ago. 2018.

CURTIS, Katrina J. *et al.* Acute dietary nitrate supplementation and exercise performance in COPD: A double-blind, placebo-controlled, randomised controlled pilot study. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 12, p. 1–18, 2015.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0144504>

Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0144504> . Acesso em: 20 ago. 2018.

SULLIVAN, Kevin M.; DEAN, Andrew G.; SOE, Minn Minn. OpenEpi: A Web-based Epidemiologic and Statistical Calculator for Public Health. **Public Health Rep**, Hyattsville, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2663701/>. Acesso em: 20 jan. 2018.

DI GIOSIA, P. *et al.* Gender Differences in Epidemiology, Pathophysiology, and Treatment of Hypertension. **Current Atherosclerosis Reports**, Philadelphia, v. 20, n. 3, 2018.

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11883-018-0716-z>.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11883-018-0716-z>

Acesso em: 20 ago. 2018.

FRETTA, Tatiana De Bem. Melhora dos sintomas do climatério por meio da atividade física: uma revisão sistemática. **Saúde em Revista**, Piracicaba, v. 17, n. 46, p. 67, 25 ago. 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15600/2238-1244/sr.v17n46p67-78>

Disponível em: <https://www.metodista.br/revistas/revistas-unimep/index.php/sr/article/view/3385>. Acesso em: 20 ago. 2018.

FRIIS, Anne Louise *et al.* Dietary beetroot juice – effects on physical performance in COPD patients: A randomized controlled crossover trial. **International Journal of COPD**, [s. l.], v. 12, p. 1765–1773, 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/COPD.S135752>

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5479267/>. Acesso em: 20 ago. 2018.

GIOLO, Jéssica S. *et al.* The effects of isoflavone supplementation plus combined exercise on lipid levels, and inflammatory and oxidative stress markers in postmenopausal women.

Nutrients, Basel, v. 10, n. 4, p. 1–11, 2018.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/nu10040424>

Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/4/424>. Acesso em: 20 ago. 2018.

GOMES ANUNCIACÃO, Paulo; DOEDERLEIN POLITO, Marcos. A review on post-exercise hypotension in hypertensive individuals. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, São Paulo, v. 96, n. 5, p. e100–e109, 2011.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2011005000025>

Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X201100500019&lng=pt&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 20 ago. 2018.

GULDIKEN, Burcu *et al.* Home-processed red beetroot (*Beta vulgaris* L.) products: Changes in antioxidant properties and bioaccessibility. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 17, n. 6, 2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17060858>

Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/17/6/858>. Acesso em: 20 ago. 2018.

IBGE. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios: Síntese de indicadores. IBGE. 2015.

Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv98887.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2018.

IBGE. Práticas de esporte e atividade física. Rio de Janeiro: IBGE. 2015. Disponível em:

<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv100364.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2018.

IBGE. Rio de Janeiro: IBGE, 2016. v. 39. Disponível em:

<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv98965.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2017

JAJA, A. *et al.* Beetroot supplementation lowers daily systolic blood pressure in older, overweight subjects. **Nutrition Research**, [s. l.], v. 34, n. 10, p. 868–875, 2014.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2014.09.007>

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531714001924?via%3Dihub>. Acesso em: 20 ago. 2018.

JONES, Andrew M. Influence of dietary nitrate on the physiological determinants of exercise performance: a critical review. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, [s. l.], v. 39, n. 9, p. 1019–1028, 2014.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/apnm-2014-0036>

Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/apnm-2014-0036>. Acesso em: 20 ago. 2018.

KAPIL, Vikas *et al.* Dietary nitrate provides sustained blood pressure lowering in hypertensive patients: a randomized, phase 2, double-blind, placebo-controlled study. **Hypertension**, v. 65, n. 2, p. 218–229, 2015.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04675>

Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04675>. Acesso em: 20 ago. 2018.

KAPIL, Vikas *et al.* Inorganic nitrate supplementation lowers blood pressure in humans: Role for nitrite-derived NO. **Hypertension**, v. 56, n. 2, p. 274–281, 2010.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.153536>

Disponível em:

<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.153536>. Acesso em: 20 ago. 2018.

KARVONEN, M; KENTALA, E; MUSTALA, O. The effects of training on heart rate; a longitudinal study. **Annales medicinae experimentalis et biologiae Fenniae**.

Helsinki, v. 35, n. 3, p. 307–15, 1957. Disponível em:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13470504>. Acesso em: 20 ago. 2018.

KORSAGER LARSEN, Monica; MATCHKOV, Vladimir V. Hypertension and physical exercise: **The role of oxidative stress**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 19–27, 2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.medic.2016.01.005>

Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010660X16000070>. Acesso em: 20 ago. 2018.

KUROSE, I. *et al.* Effects of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis on postcapillary venules. **The American journal of physiology**, Washington, v. 268, 1995.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.1995.268.6.H2224>

Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7541959>. Acesso em: 20 ago. 2018.

MALACHIAS, Marcus Vinícius Bolívar; *et al.* 7a Diretriz Brasileira De Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 2016. v. 107.

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20160151>

Disponível em:

http://publicacoes.cardiol.br/2014/diretrizes/2016/05_HIPERTENSAO_ARTERIAL.pdf.

Acesso em: 20 ago. 2018.

MASALA, G. *et al.* Physical activity and blood pressure in 10,000 Mediterranean adults: The EPIC-Florence cohort. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, [s. l.], v. 27, n. 8, p. 670–678, 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2017.06.003>

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939475317301242?via%3Dihub>. Acesso em: 20 ago. 2018.

MATSUDO, S. *et al.* International Physical Activity Questionnaire (IPAQ): study of validity and reliability in Brazil. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, Londrina, v. 6, p. 5–18, 2001. Disponível em: <http://rbafs.org.br/RBAFS/article/download/931/1222/>. Acesso em: 20 ago. 2018.

MEIRELLES, Ricardo. Menopause and metabolic syndrome. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, [s. l.], v. 58, n. 2, p. 91–6, 2014.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0004-2730000002909>

Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302014000200091. Acesso em: 20 ago. 2018.

MENDOZA, Nicolás *et al.* Benefits of physical exercise in postmenopausal women. **Maturitas**. Amsterdam, v. 93, p. 83–88, 2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.04.017>

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378512216300962?via%3Dihub>. Acesso em: 20 ago. 2018.

NAVAZESH, Mahvach. Methods for Collecting Saliva. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 694, p. 72–77, 20 set. 1993.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x>

Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8215087>. Acesso em: 20 ago. 2018.

OCAMPO, Diego A Bonilla *et al.* Dietary Nitrate from Beetroot Juice for Hypertension: A Systematic Review. **Biomolecules**, Basel, p. 1–12, 2018.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biom8040134>

Disponível em: www.mdpi.com/journal/biomolecules. Acesso em: 20 ago. 2018.

PATE, Russell R *et al.* Physical Activity and Public Health: a recommendation from the centers for disease control physical activity and public health and prevention and the american college of sports medicine. **Jama**, Chicago, v. 273, 1995.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1995.03520290054029>

Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/386766>. Acesso em: 20 ago. 2018.

PESCATELLO, Linda S. *et al.* Exercise for Hypertension: A Prescription Update Integrating Existing Recommendations with Emerging Research. **Current Hypertension Reports**, Philadelphia, v. 17, n. 11, 2015.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11906-015-0600-y>

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11906-015-0600-y>. Acesso em: 20 ago. 2018.

POORTMANS, Jacques R.; GUALANO, Bruno; CARPENTIER, Alain. Nitrate supplementation and human exercise performance: Too much of a good thing?. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, London, v. 18, n. 6, p. 599–604, 2015.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MCO.0000000000000222>

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26447563>. Acesso em: 20 ago. 2018.

ROMERO, Steven A.; MINSON, Christopher T.; HALLIWILL, John R. The cardiovascular system after exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 122, n. 4, p. 925–932, 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00802.2016>

Disponível em: <http://jap.physiology.org/lookup/doi/10.1152/jappphysiol.00802.2016>. Acesso em: 20 ago. 2018.

SANTOS-PARKER, Jessica R; LAROCCA, Thomas J; SEALS, Douglas R. Aerobic exercise and other healthy lifestyle factors that influence vascular aging. **Advances in physiology education**, Bethesda, v. 38, n. 4, p. 296–307, dez. 2014.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/advan.00088.2014>

Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25434012>. Acesso em: 20 ago. 2018.

SANTOS, Lucas P. *et al.* Effects of aerobic exercise intensity on ambulatory blood pressure and vascular responses in resistant hypertension: A crossover trial. **Journal of Hypertension**, London, v. 34, n. 7, p. 1317–1324, 2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000000961>

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27137175>. Acesso em: 20 ago. 2018.

SOUSA, Evitom Corrêa, *et al.* Resistance training alone reduces systolic and diastolic blood pressure in prehypertensive and hypertensive individuals: meta-analysis. **Hypertension Research**, [s. l.], p. 1–5, Apr. 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/hr.2017.69>

Disponível em: <http://www.nature.com/doi/10.1038/hr.2017.69>. Acesso em: 20 ago. 2018.

TAKAHASHI, Traci A.; JOHNSON, Kay M. Menopause. **Medical Clinics of North America**, [s. l.], v. 99, n. 3, p. 521–534, 2015.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2015.01.006>

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025712515000218?via%3Dihub>. Acesso em: 20 ago. 2018.

TIBANA, R.A. *et al.* Correlation between acute and chronic 24-hour blood pressure response to resistance training in adult women. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v. 36, n. 1, p. 82–89, 2015.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0034-1382017>

Disponível em: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0034-1382017>. Acesso em: 20 ago. 2018.

TUOMIKOSKI, Pauliina; SAVOLAINEN-PELTONEN, Hanna. Vasomotor symptoms and metabolic syndrome. **Maturitas**, Amsterdam, v. 97, p. 61–65, mar. 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.12.010>

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378512216304030?via%3Dihub>. Acesso em: 20 ago. 2018.

VANHATALO, A. *et al.* Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. **American Journal Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 299, n. 4, p. R1121–R1131, 2010.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00206.2010>

Disponível em: <http://ajpregu.physiology.org/cgi/doi/10.1152/ajpregu.00206.2010>. Acesso em: 20 ago. 2018.

WHELTON, Paul K. *et al.* 2017 Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults. **Journal of the American College of Cardiology**, New York, 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2017.07.745>

Disponível em: https://www.acc.org/~media/Non-Clinical/Files-PDFs-Excel-MS-Word-etc/Guidelines/2017/Guidelines_Made_Simple_2017_HBP.pdf. Acesso em: 20 ago. 2018.

YOUNG, Deborah Rohm *et al.* Sedentary Behavior and Cardiovascular Morbidity and Mortality: A Science Advisory From the American Heart Association. **Circulation**, Dallas, 2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/CIR.0000000000000440>

Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIR.0000000000000440>. Acesso em: 20 ago. 2018.

ZAMANI, Payman *et al.* Effect of inorganic nitrate on exercise capacity in heart failure with preserved ejection fraction. **Circulation**, Dallas, v. 131, n. 4, p. 371–380, 2015.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.012957>

Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.012957>. Acesso em: 20 ago. 2018.

ZANESCO, Angelina; ANTUNES, Edson. Effects of exercise training on the cardiovascular system: Pharmacological approaches. **Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 114, n. 3, p. 307–317, 2007.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.03.010>

Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725807000721>.

Acesso em: 20 ago. 2018.

ZANESCO, Angelina; ZAROS, Pedro Renato. Exercício físico e menopausa. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 5, p. 1–8, 2009.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032009000500009>

Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032009000500009&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

Acesso em: 20 ago. 2018.

ZILBERMAN, Judith M *et al.* Association Between Hypertension, Menopause, and Cognition in Women. **Journal of clinical hypertension (Greenwich)**, Greenwich, v. 17, n. 12, p. 970–6, dez. 2015.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jch.12643>

Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26252810>. Acesso em: 20 ago. 2018.