

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA – UFU
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA E FISIOTERAPIA – FAEFI
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA – PPGFISIO

VICTOR HUGO VILARINHO CARRIJO

**O EFEITO DE UMA DOSE DE SUCO DE BETERRABA ASSOCIADO AO
EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO NA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA
CARDÍACA DE MULHERES HIPERTENSAS APÓS A MENOPAUSA: UM
ESTUDO CRUZADO, DUPLO CEGO E RANDOMIZADO**

Uberlândia

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA – UFU
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA E FISIOTERAPIA – FAEFI
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA – PPGFISIO

VICTOR HUGO VILARINHO CARRIJO

O EFEITO DE UMA DOSE DE SUCO DE BETERRABA ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO NA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE MULHERES HIPERTENSAS APÓS A MENOPAUSA: UM ESTUDO CRUZADO, DUPLO CEGO E RANDOMIZADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Faculdade de Educação Física e Fisioterapia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Fisioterapia.

Orientador: Dr. Guilherme Morais Puga

Uberlândia

2021

VICTOR HUGO VILARINHO CARRIJO

O efeito de uma dose de suco de beterraba associado ao exercício físico aeróbico na variabilidade da frequência cardíaca de mulheres hipertensas após a menopausa: um estudo cruzado, duplo cego e randomizado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Faculdade de Educação Física e Fisioterapia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Fisioterapia.

Orientador: Dr. Guilherme Morais Puga

Banca Examinadora

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

Titular: Prof.^a Dra. Nádia Carla Cheik

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia – UFU – Uberlândia/MG

Titular: Prof.^a Dra. Ana Carolina Kanitz

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS- Porto Alegre/RS

Suplente: Prof.^a Dra. Ana Paula Magalhães Resende Bernardes

Instituição: Universidade Federal de Uberlândia – UFU – Uberlândia/MG

Suplente: Prof. Dr. Eduardo Elias Vieira de Carvalho

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM – Uberaba/MG

Agradecimentos

Aos meus pais, Laura Oliveira Vilarinho e Hugo Horácio Carrijo pelo apoio incondicional e por estarem sempre ao meu lado.

Ao Prof. Dr. Guilherme Morais Puga, pela orientação e conselhos durante todo o período.

Aos colegas do laboratório de Fisiologia Cardiorrespiratória e Metabólica por todo o companheirismo e profissionalismo, em especial agradeço a Ana Luiza Amaral e ao Igor Morais Mariano pelas contribuições acadêmicas.

À Ana Luiza Cabral, Jhonatan Carlos Terêncio e Gabriela Leão, pela grande parceria dentro e fora dos ambientes acadêmicos.

Às voluntárias do projeto.

A todas as pessoas que trabalham na Faculdade de Educação Física e Fisioterapia – FAEFI

A Universidade Federal de Uberlândia – UFU e também à Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, pelas instalações.

À banca de avaliação tanto de qualificação como defesa pelos ensinamentos.

RESUMO

O objetivo do estudo foi comparar os efeitos agudos da ingestão de uma dose de suco de beterraba com diferentes concentrações de nitrato (NO_3^-), na Variabilidade de Frequência Cardíaca (VFC) em mulheres hipertensas na pós menopausa. Participaram do estudo trezes mulheres hipertensas e na pós menopausa ($58,1 \pm 4,62$ anos e $27,4 \pm 4,25$ kg/m^2). As voluntárias realizaram três visitas para ingestão de diferentes sucos em ordem randomizada e cruzada: Suco de beterraba com alto teor de nitrato (High – NO_3^-), suco de beterraba com baixo teor de nitrato (Low – NO_3^-) e a bebida não calórica sabor de laranja (OFD). As voluntárias chegavam as 7h00 no laboratório e eram conduzidas até uma sala para a análise da Frequência Cardíaca (FC) de repouso na posição sentada durante 20 minutos. Posteriormente elas ingeriam uma das bebidas e permaneciam em repouso durante duas horas até o começo do exercício aeróbico em esteira ergométrica, que era realizado com intensidade a 65-70% da Frequência Cardíaca de Reserva (FCR) por 40 minutos. Após o final da sessão de exercício novamente era conduzidas até a sala e permaneciam por 90 minutos para análise da FC. A partir dos dados da FC pré e pós exercício foi calculada a VFC das três sessões nos domínios do tempo (RMSSD, SDNN, Pnn50), frequência (HF, LF, LF/HF) e não lineares (SD2, SD1, SD2/SD1). A ANOVA *two way* mostrou que não houve diferença em nenhum ponto dos 90 minutos nos domínios da VFC, para tempo, SDNN ($p=0,24$), RMSSD ($p=0,59$) e Pnn50 ($p=0,81$), para frequência, LF ($p=0,54$), HF ($p=0,80$) e LF/HF ($p=0,39$) e domínios não lineares, sendo, SD2 ($p=0,55$), SD1 ($p=0,10$) e SD2/SD1 ($p=0,46$) após a realização do exercício, quando comparadas as três sessões. Assim parece que a ingestão do suco de beterraba com alto ou baixo teor de Nitrato não alteram de maneira aguda as respostas da variabilidade da frequência cardíaca após uma sessão de exercício aeróbio em mulheres hipertensas na pós menopausa.

Palavras chave: Nitrato; Oxido nítrico; Hipertensão; Menopausa; Frequência Cardíaca

ABSTRACT

The aim of the study was to compare the acute effects of ingesting a dose of beet juice with different concentrations of nitrate, on Heart Rate Variability (HRV) in postmenopausal hypertensive women. Thirteen hypertensive and postmenopausal women (58.1 ± 4.62 years and 27.4 ± 4.25 kg / m²) completed the protocol that consisted of three visits for ingesting different juices in a randomized and crossed order: Beet juice with high content of nitrate (High – NO₃⁻), low nitrate beet juice (Low – NO₃⁻) and orange flavored non-caloric drink (OFD). The volunteers arrived at 7 am in the laboratory and were taken to a room for the analysis of Heart Rate (HR) for 20 minutes. Subsequently, they ingested one of the drinks and remained at rest for two hours until the beginning of the aerobic exercise on a treadmill, which was performed with intensity at 65-70% of the Reserve Heart Rate (FCR) for 40 minutes. After the end of the exercise session, they were again taken to the room and remained for 90 minutes for HR analysis. From the HR data before and after exercise, HRV was calculated for the three sessions in the time (RMSSD, SDNN, Pnn50), frequency (HF, LF, LF / HF) and non-linear (SD2, SD1, SD2 / SD1) domains). The two-way ANOVA showed that there was no difference at any point in the 90 minutes in the HRV domains, for time, SDNN ($p = 0.24$), RMSSD ($p = 0.59$) and Pnn50 ($p = 0.81$), for frequency, LF ($p = 0.54$), HF ($p = 0.80$) and LF / HF ($p = 0.39$) and non-linear domains, being, SD2 ($p = 0.55$), SD1 ($p = 0.10$) and SD2 / SD1 ($p = 0.46$) after the exercise, when comparing the three sessions. Thus, it appears that the intake of beet juice with high or low Nitrate content does not acutely alter the responses of heart rate variability after an aerobic exercise session in postmenopausal hypertensive women.

Keywords: Nitrate; Nitric oxide; Hypertension; Menopause; Heart Rate.

Lista de abreviaturas e siglas

AUC	<i>Area Under the Curve</i>
BJ	<i>Beetroot Juice</i>
BP	<i>Blood Pressure</i>
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
High - NO ₃ ⁻	Bebida com alto teor de nitrato (<i>Beet Juice with a high content NO₃⁻</i>)
HR	<i>Heart Rate</i>
IPAQ	<i>Physical Activity Questionnaire</i>
Low - NO ₃ ⁻	Bebida com baixo teor de nitrato (<i>Beet Juice with a low content NO₃⁻</i>)
MAPA	Monitorização Ambulatorial Da Pressão Arterial
NC	Bebida não calórica sabor laranja
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	Suco de laranja não calórico (<i>Non-caloric Orange Flavor Drink</i>)
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
RPE	<i>Subjective Perception of Exertion</i>
SB	Suco de Beterraba
SBP	<i>Systolic Blood Pressure</i>

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	7
1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	9
Climatério	9
Hipertensão	10
Exercício Físico, Hipertensão e Sistema Nervoso Autônomo	11
Ingestão de suco de beterraba	12
Variabilidade de frequência cardíaca	14
2. OBJETIVO	17
Objetivo geral	17
Hipótese	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
Participantes.....	17
Desenho do estudo	18
Sessão de exercícios.....	19
Ingestão do suco de beterraba.....	19
Coleta e análise da variabilidade de frequência cardíaca.....	20
Coleta e análise de saliva	21
Análise estatística	21
4. RESULTADOS.....	22
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
7. ANEXOS	52

INTRODUÇÃO

Após a menopausa há redução da produção de estrogênio pelos ovários, um hormônio que dentre suas funções tem a de cardioproteção (KNOWLTON; KORZICK, 2014). A partir dessa deficiência hormonal as mulheres podem sofrer alterações cardiovasculares e endócrino metabólicas (LAGRANHA et al., 2018), aumentando por consequência a incidência do desenvolvimento de doenças cardiovasculares e metabólicas (COYLEWRIGHT; RECKELHOFF; OUYANG, 2008).

Dentre as alterações encontradas, destaca-se a disfunção endotelial, disfunção autonômica e consequente aumento da pressão arterial (PA) (MALACHIAS et al., 2016). As mulheres acometidas pela hipertensão arterial (HA) apresentam disfunções no Sistema Nervoso Autônomo (SNA) que além de desempenhar um importante papel no controle da PA também modula a Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC), que pode ser utilizada como índice de controle simpático e parassimpático no coração (MALIK; CAMM, 1993). Assim, a avaliação da VFC tem sido mostrada como uma importante ferramenta de avaliação da função autonômica (SANDERCOCK; BROMLEY; BRODIE, 2005).

Para controle e tratamento da HA, são recomendadas mudanças de estilo de vida, como a alteração de hábitos alimentares e a prática de exercícios físicos (GOMES ANUNCIÇÃO; DOEDERLEIN POLITO, 2011). Os benefícios do treinamento físico para melhorar a VFC foram relatados em alguns estudos anteriores, (BESNIER et al., 2019; PEARSON; SMART, 2018; SANDERCOCK; BROMLEY; BRODIE, 2005; VILLAFAINA et al., 2017) que mostram um aumento do tônus parassimpático em diversas populações pós realização de programas de exercícios aeróbicos, resistidos e intervalados de alta intensidade. Além disso, o exercício físico atua na regulação da PA através da dilatação mediada pelo endotélio, principalmente mediante a liberação de Óxido Nítrico (NO) (KORSAGER LARSEN; MATCHKOV, 2016).

O NO desempenha um papel de proteção fundamental no endotélio, sendo que a redução de sua biodisponibilidade pode causar danos na função vascular do indivíduo (LOSCALZO, 2001). A ingestão de bebidas com alto teor de nitrato (NO_3^-) como o suco de beterraba (SB) pode ser um recurso a ser utilizado quando se quer aumentar a biodisponibilidade de NO (GULDIKEN et al., 2016).

Um estudo de (BAILEY et al., 2009) apontou que de 4 a 6 dias ingestão do SB na dieta são suficientes para aumentar a quantidade de NO_3^- no organismo. Além disso, a administração de NO_3^- pode trazer diversos benefícios fisiológicos em diferentes

pacientes (RAUBENHEIMER et al., 2017), como a diminuição da PA em idosos obesos e em adultos jovens (KELLY et al., 2013; SWEAZEA et al., 2018) além de melhorar marcadores de função endotelial em idosos com risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) (RAMMOS et al., 2014). Ainda, a literatura sugere que o NO atua no controle da modulação vagal cardíaca, podendo também atuar na chamada “modulação vagal indireta” provocando a bradicardia (CHOWDHARY; TOWNEND, 1999; SCHULTZ, 2009). Todavia são poucos estudos que relacionam NO e SNA, o que aumenta ainda mais a relevância deste estudo.

Alguns estudos (MARKOS et al., 2001; PEKDEMIR et al., 2004) mostraram que dietas com altas concentrações de NO_3^- estão diretamente relacionadas com a melhora na VFC tanto em modelos animais, como em seres humanos. Esses achados sugerem que a via do NO/GMPc (Monofosfato cíclico de guanosina) intracelular, pode alterar a sinalização do cardiomiócito. Notay et al., (2017) mostraram em seu estudo que ingestão aguda de NO_3^- pode diminuir o fluxo simpático central em jovens, sugerindo a ingestão de SB como estratégia para melhora na função autonômica em outras populações. Resultados similares foram encontrados por Bond e colaboradores (BOND et al., 2014) em mulheres afrodescendentes, onde a ingestão de SB reduziu a PA e melhorou a VFC nessa população.

Frente a esse cenário parece que a ingestão de um suco com alto teor de NO_3^- poderia potencializar as alterações na VFC mediadas por uma sessão de exercício físico aeróbio, melhorando as repostas do SNA. Novas estratégias como a análise da VFC mediadas juntamente com o exercício físico após a ingestão de NO_3^- são necessárias para um melhor entendimento e controle sobre a modulação de todo o SNA, e até onde sabemos, este estudo é pioneiro nessa população, a literatura ainda é escassa quando se analisa diferentes concentrações de NO_3^- mediadas junto com exercícios aeróbicos nas variáveis de VFC em mulheres na pós menopausa. Sendo assim, objetivo do estudo foi comparar os efeitos da ingestão de uma dose de SB com alto teor de NO_3^- (High – NO_3^-), baixo teor de NO_3^- (Low – NO_3^-) e uma bebida não calórica (OFD) em variáveis da VFC após exercício aeróbico em mulheres hipertensas após a menopausa.

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Climatério

O climatério é o período de transição fisiológica da fase reprodutiva para a não reprodutiva na mulher. O principal marco dessa fase é a menopausa, que é caracterizado como um período de 12 meses de amenorreia e ocorre devido a falência total da função ovariana na produção e liberação de estrogênio e da ovulação (BORRELLI; ERNST, 2010), sendo que toda a fase após esse marco é o período chamado de pós-menopausa (ANTUNES; MARCELINO; AGUIAR, 2003). É importante entender o que acontece com o corpo da mulher em cada fase dentro do climatério, sendo essas, divididas em: pré-menopausa, perimenopausa, menopausa e pós menopausa (TAKAHASHI; JOHNSON, 2015).

Na primeira fase, denominada pré menopausa, as mulheres sentem irregularidades no fluxo menstrual, pois os folículos que estão presentes nos ovários já não correspondem de forma regular os estímulos dados pelas gonadotrofinas hipofisárias (TAKAHASHI; JOHNSON, 2015). Além disso, os primeiros sintomas começam a ser sentidos por algumas mulheres, fogachos, sudorese e dores de cabeça são os mais relatados.

Posterior a pré menopausa acontece a perimenopausa, caracterizada por diminuição abrupta do fluxo menstrual e sua recorrência, é nessa fase que a produção de estrogênio pelo ovário está próxima da cessação. O estrogênio possui função cardioprotetora, por ser vasodilatador através da estimulação de Óxido Nítrico (NO) e por diminuir a ação de vasoconstritores, como a angiotensina 2 e a endotelina – 1, a deficiência na produção desse hormônio causa alterações no organismo, aumentando os riscos de desenvolvimento de doenças cardiometabólicas, como a hipertensão arterial (HA) (ZILBERMAN et al., 2015).

A menopausa é um marco, caracteriza-se pela última menstruação da mulher, podemos confirmar a fase após 12 meses com fluxo menstrual ausente, determinando assim, o encerramento da produção de estrogênio pelos ovários. A pós menopausa é a última fase do climatério, sendo descrita posteriormente a menopausa e não tendo um fim estipulado. É designada pelo aumento dos níveis do Hormônio Folículo estimulante (FSH) e pela liberação mínima de estrogênio (ANTUNES; MARCELINO; AGUIAR, 2003).

O climatério é um período importante na vida das mulheres, mudanças físicas, emocionais e comportamentais são observadas nessa fase, sendo que alguns sintomas

como fogachos, diminuição da libido e dificuldades para dormir são diagnosticados como normais (TUOMIKOSKI; SAVOLAINEN-PELTONEN, 2017). Além de estarem mais vulneráveis socialmente, pois geralmente a fase coincide com saída de filhos do lar e aposentadoria, as mulheres também sofrem fisiologicamente, com aumento de peso e como já mencionado, o aparecimento de doenças cardiometabólicas, pela deficiência na produção de hormônio e a liberação de FSH.

Hipertensão

A hipertensão (HA) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por elevação sustentada dos níveis pressóricos ≥ 140 e/ou 90 mmHg e é considerada uma doença crônica degenerativa segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2016). Alguns fatores contribuem para o aumento de risco de se desenvolver HA: sexo e etnia, há maior incidência em mulheres negras; excesso de peso e obesidade; má alimentação com consumo excessivo de sódio; alcoolismo; sedentarismo; envelhecimento; e genético (MALACHIAS et al., 2016). A HA no Brasil atinge 36 milhões de pessoas cerca de 32,5%, e essa patologia contribui de forma indireta ou direta para 50% das mortes dessa população por doença cardiovascular (DCV) (MALACHIAS et al., 2016).

Para diagnosticar indivíduos com HA, é preciso fazer a medição da pressão arterial (PA), seja ela em consultório, por esfigmomanômetros manuais ou automáticos, ou por medições fora do consultório, realizada múltiplas vezes pela monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) de 24 horas, sendo essa mais precisa por avaliar em período diurno e noturno (MALACHIAS et al., 2016).

Posteriormente a avaliação da PA, o indivíduo pode ser caracterizado como normotenso, pré-hipertenso ou hipertenso. Pessoas normotensas apresentam uma PA na medição de consultório de ≤ 120 mmHg para pressão arterial sistólica (PAS) e ≤ 80 mmHg para a pressão arterial diastólica (PAD), sendo valores confirmados por medições fora do laboratório. Indivíduos pré-hipertensos apresentam valores de PA entre 121 e 139 mmHg para a PAS e entre 81 e 89 mmHg para PAD, esses com maior chances de desenvolver a HA (MALACHIAS et al., 2016).

Várias são as opções de tratamento para HA, e incluem intervenção com a administração de fármacos juntamente com mudanças de estilo de vida. Anti hipertensivos de diversas classes são comumente usados como recurso terapêutico da doença, dependendo da possível causa diagnosticada, reduzindo então risco de morte por

doenças cardiovasculares (DCV), mas precisam ser acompanhados de mudanças na alimentação e o começo de prática de atividades físicas.

Estudos mostram importantes reduções de valores de PA em HA após exercícios físicos, tanto aeróbicos quanto em resistidos (PESCATELLO et al., 2015; SANTOS et al., 2016), sendo que a não inclusão das alterações de hábitos juntamente com o remédio pode causar a progressão da doença em indivíduos com HA (MALACHIAS et al., 2016; MASALA et al., 2017).

Exercício Físico, Hipertensão e Sistema Nervoso Autônomo

É comum vermos o termo “exercício físico” sendo caracterizado como sinônimo de atividade física, mesmo sendo um componente dentro de atividade física. O exercício físico é caracterizado por movimento corporal planejado, com objetivos pré definidos e usados como melhor forma para se obter sucesso e resultados em componentes da aptidão física, sendo que a atividade física é qualquer movimento corporal realizado com gasto energético.

A atividade física é essencial para um funcionamento regular do organismo humano (ZANESCO; ANTUNES, 2007), a inatividade física é um dos fatores responsáveis para ao aparecimento de DCV, como a HA, também sendo preditor de mortes prematuras em indivíduos (YOUNG et al., 2016). No Brasil, as mulheres praticam menos atividades físicas que os homens, sendo que aproximadamente 62% da população não pratica atividade depois dos 15 anos em nosso país (IBGE, 2015).

Existem diversos tipos de exercício físico são consolidados na literatura como estratégias não farmacológicas para a redução da pressão arterial em diversas populações (CORNELISSEN; SMART, 2013). O exercício aeróbico, por exemplo, é capaz de promover mudanças hemodinâmicas no organismo (ROMERO; MINSON; HALLIWILL, 2017), na PA estudos mostram que o exercício é capaz de oferecer repostas positivas agudas, com a hipotensão pós exercício (HPE) reduzindo valores de pressão arterial de repouso (PAr) em até 24hs após a sessão de exercício (GOMES ANUNCIÇÃO; DOEDERLEIN POLITO, 2011) e crônicas através da redução da PAr de forma contínua (PESCATELLO et al., 2015).

O exercício físico também é classicamente utilizado com finalidade de perda de peso, uma recente meta análise de Costa et al., (2019) mostrou que perder peso através dessa prática resulta em mudanças no SNA, onde as vias simpáticas diminuem sua frequência e as parassimpáticas aumentam, um efeito positivo para o funcionamento do sistema. As

evidências sugerem que a prática de exercícios aeróbicos e resistidos diminui a atividade do sistema nervoso simpático de forma crônica em populações de adultos e também de idosos, alterando assim sua variabilidade de frequência cardíaca (HAUTALA; KIVINIEMI; TULPPO, 2009; MARTINS-PINGE, 2011; PARK et al., 2020; RAFFIN et al., 2019).

Uma revisão sistemática com meta análises realizada recentemente, sugere que o exercício físico aeróbico realizado de 8 até 16 semanas é capaz de modular a VFC de pacientes com alterações no SNA, diminuindo influência do sistema simpático (PEARSON; SMART, 2018), resultados semelhantes aos achados de Sandercock, G.R.H; Bromley, P. D.; Brodie, D. A. (2005), outra meta análise que avalia o efeito do treinamento crônico em populações adultas e idosas, encontrando um aumento de variabilidade nos intervalos RR, além da melhora na banda de alta frequência (HF), o que resulta em melhora de toda a VFC.

As relações entre exercícios aplicados em uma sessão e VFC ainda são pouco exploradas, um ensaio clínico de De Paula et. al., (2019) realizado com adultos mostrou uma piora da VFC depois de 20 minutos de exercício aeróbico de intensidade moderada por 40 minutos. Esses resultados vão ao encontro dos achados por Raimundo et. al., (2013) que analisaram uma sessão de treinamento aeróbico em indivíduos com distúrbios no SNA nos índices de VFC e encontraram piora nos 15 minutos iniciais, mas, uma tendência de aumento quando mensurado aos 30 minutos, sugerindo então, análises com mais tempo após o exercício.

Sabendo dos efeitos fisiológicos que ocorrem no corpo da mulher durante o climatério e pós menopausa e ainda que são as pessoas que menos praticam atividades físicas, a administração de exercícios físicos para elas é de suma importância e promovem diversas adaptações, que proporcionam a homeostase no organismo. Dentre as importantes adaptações que o exercício promove no corpo dessas mulheres, está o aumento da atividade da enzima Oxido nítrico síntese (eNOS) pelo aumento da atividade do NO (MENDOZA et al., 2016), podendo levar ao aumento da vasodilatação (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002).

Ingestão de suco de beterraba

A espécie *Beta Vulgaris* pertence à família Quenopodiaceae, originada em regiões europeias e norte-africanas de clima temperado, essas hortaliças possuem parte

comestível em uma raiz tuberosa de formato redondo e com sabor intensamente doce (FILGUEIRA, 2000). A cor vermelha um pouco roxa da beterraba se deve a presença de betalaínas, essa hortaliça em sua composição apresenta grande conteúdo de vitaminas do complexo B e nutrientes como: potássio, sódio, ferro, zinco, cobre (ALVES et al., 2008).

No Brasil a produção da beterraba se encontra nas regiões sudeste e sul, mas são consumidas por grande parte do território nacional, pode ser preparadas em forma de geleia, cozidas, em fornos, processadas e até mesmo em sucos (GULDIKEN et al., 2016). Os principais estudos com a hortaliça acontecem com a ingestão de suco, além de todos os benefícios já citados a beterraba é rica em Nitrato Inorgânico (NO_3^-) um potente precursor de NO no organismo.

Quando ingerido o NO_3^- é reduzido em Nitrito (NO_2^-) na boca através das bactérias simbióticas presentes na língua com a xantina oxidase, ainda, é ali que a coleta da saliva é feita para mais tarde serem analisadas as concentrações de NO (NAVAZESH, 1993). Posteriormente percorrem então seu caminho até o estômago, e quando entram em contato com o suco gástrico, reações convertem uma parte de NO_2^- em NO. O NO_3^- e NO_2^- que ainda permaneceram, são absorvidos pelo próprio estômago e também pelo duodeno, assim entram na circulação sistêmica e então serão convertidos nos tecidos e no sangue a NO bioativo. Esses íons vão se acumulando no plasma favorecendo a produção de NO endotelial, esse NO pode se difundir livremente através da membrana células-alvo aumentando sua concentração e conseqüentemente ocasionando a vasodilatação por meio de diferentes mecanismos celulares (monofosfato de guanósina cíclica; hiperpolarização; e proteína quinase depende de GMPc) que estão associados a redução da PA (BONILLA OCAMPO et al., 2018).

Em um primeiro momento a ingestão de NO_3^- e NO_2^- foi vista de forma negativa pela comunidade científica, sendo julgados como agentes carcinogênicos, pois em alimentos enlatados e embutidos há uma grande quantidade de NO_2^- , que em determinadas combinações de amins e amidas podem formar nitrosaminas, por isso foram aconselhadas quantidades diárias seguras para a ingestão de NO_3^- e NO_2^- . Porém nota-se uma maior concentração de NO_3^- e NO_2^- em leite materno e alguns vegetais (substâncias com relações negativas ao desenvolvimento de câncer) do que na própria quantidade de segurança recomendada, questionando então se os agentes carcinogênicos estão nos nutrientes em si ou em algumas substâncias dos embutidos (BEDALE; SINDELAR; MILKOWSKI, 2016).

Para a ingestão de NO_3^- não foram encontrados impactos negativos quanto a função renal em repouso, nos levando a ideia de que não há toxicidade no consumo do nutriente de forma esporádica, estudos ainda precisam ser realizados para se mencionar o impacto do consumo a longo prazo (POORTMANS; GUALANO; CARPENTIER, 2015).

Estudos com ingestão de suco de beterraba ganharam espaço nos últimos anos com a finalidade de buscar respostas fisiológicas e metabólicas em diversas áreas de conhecimento (ASHOR; LARA; SIERVO, 2017; CURTIS et al., 2015; DE CASTRO et al., 2019). As principais análises são realizadas na área de desempenho esportivo, avaliando desempenho e força (BETTERIDGE et al., 2016; CLIFFORD et al., 2016), mas também é usado na área da saúde, buscando respostas em indivíduos com doença pulmonar obstrutiva crônica (CURTIS et al., 2015) e também retornos pressóricos em populações acometidas com HA (BONILLA OCAMPO et al., 2018). Estudos com SB em pacientes hipertensos ainda mostram controvérsias em seus resultados. Não foram encontrados efeitos de redução de PA em hipertensos medicados após suplementação de SB por 1 semana (BONDONNO et al., 2015), contrariando esses resultados um estudo (KAPIL et al., 2015) com a mesma população encontrou redução de PA após 4 semanas de suplementação, comprovando que quando se está com a PA basal elevada mesmo sendo medicado o SB tem efeito hipotensor.

Em uma meta-análise (BONILLA OCAMPO et al., 2018) observa-se que ainda há escassez de estudos no área, principalmente quando se trata de exercício físico, ainda mais se tratando de mulheres na pós menopausa, além de precisarmos entender melhor a atuação do NO_3^- no SNA por diferentes tipos de mecanismos.

Variabilidade de frequência cardíaca

Em partes o sistema cardiovascular é controlado pelo SNA, fornecendo sinais aferentes e eferentes, em terminações simpáticas ao longo do miocárdio, e parassimpáticas ao nó sinusal, miocárdio atrial e atrioventricular (AUBERT; SEPS; BECKERS, 2003). A influência do SNA no coração depende da ação de diversos receptores que enviam sinais, barorreceptores, quimiorreceptores, sinais das vias respiratórias, e outros (COOKE et al., 1998).

Todo o controle do sistema está diretamente ligado a frequência cardíaca (FC) e a atividade do reflexo barorreceptor de cada indivíduo. A FC se modifica a todo momento, por fatores fisiológicos ou estresses do ambiente, seja em uma situação de medo, exercício físico ou até mesmo alterações do sono. O aumento da FC é resultado de uma crescente

ação da via simpática e redução vagal, já sua diminuição resulta de um aumento de atividade da via parassimpática (RAJENDRA ACHARYA et al., 2006).

Essa interação das duas vias do SNA, refletem mudanças nos intervalos RR do coração, e nos dão a Variabilidade de Frequência Cardíaca (VFC), mudanças de batimento a batimento do órgão (“Task Force”, 1996). A VFC vem sendo estudada e ganhando importância há anos, o início se deu mais precisamente em 1965 com Hon e Lee que mostraram a aplicação clínica da VFC, mais tarde em 1977 Wolf et al., mostraram relação entre baixa VFC e aumento do risco de infarto agudo do miocárdio após tratamento, e em 1987 Kleiger et al., mostraram que a VFC é um preditor independente de risco de mortalidade por infarto agudo do miocárdio (HON; LEE, 1965; KLEIGER et al., 1987; KLEIGER; STEIN; BIGGER, 2005; “Task Force”, 1996; VANDERLEI et al., 2009).

A alta VFC é um sinal de bom funcionamento de todo um conjunto, enquanto a uma VFC baixa pode indicar um mal funcionamento de SNA e consequências prejudiciais à saúde de todo o sistema. As coletas podem ser realizadas com holter (por pelo menos 18 horas), em eletrocardiogramas (ECG) ou gravadores de FC, que geralmente são utilizadas gravações de 5 minutos, em ambientes controlados sem nenhuma interferência externa que possa afetar o SNA (CYGANKIEWICZ; ZAREBA, 2013). A VFC pode ser analisada por vários métodos e técnicas, sendo que os mais usados são em domínios de tempo, frequência e também não-lineares (KLEIGER; STEIN; BIGGER, 2005; “Task Force”, 1996).

As variáveis em domínio de tempo incluem analisar o SDNN, rMSSD e Pnn50. O SDNN é a raiz quadrada da variação de intervalos RR, fazendo uma investigação global do comportamento de todo o sistema, o rMSSD pode ser descrito com a raiz quadrada da médias entre os intervalos expressa em metros/segundo (ms) e tem predominância de tônus parassimpático, já a pNN50 indica a porcentagem de intervalos RR que são superiores a 50ms e também contém predominâncias de tônus vagal (CYGANKIEWICZ; ZAREBA, 2013; KLEIGER; STEIN; BIGGER, 2005; “Task Force”, 1996; VANDERLEI et al., 2009).

Em variáveis de domínios de frequência são analisados, LF, HF e LF/HF. LF significa baixa frequência, a obtenção desses dados se dá em Hz variando de 0,04 a 0,15Hz devida aos estímulos vagais e simpáticos no coração, com predomínio aos simpáticos, a HF significa alta frequência varia de 0,15 a 0,4Hz e corresponde a modulação respiratória, com predominância parassimpática no coração. O Componente LF/HF é a razão absoluta

entre os bandas de alta e baixa frequência, sinalizando um balanço autonômico, quanto menor o valor de LF/HF mais predomínio vagal (CYGANKIEWICZ; ZAREBA, 2013; KLEIGER; STEIN; BIGGER, 2005; “Task Force”, 1996; VANDERLEI et al., 2009).

As análises não lineares na VFC são menos usadas para a prática clínica, geralmente apresentadas em gráficos de linha, mas podem ser expressar em números através de SD1, SD2 e SD2/SD1. O domínio SD1 representa a dispersão dos pontos perpendiculares a linha em uma gravação batimento a batimento de VFC, detalhando uma oscilação entre predomínios simpáticos e parassimpáticos. SD2 representa a dispersão dos pontos na linha em uma gravação a longo prazo, com predomínio de tônus vagal, já a banda SD2/SD1 é a relação a curto e longo prazo dos intervalos RR (VANDERLEI et al., 2009).

Estudos com VFC são realizados em diversas áreas, com populações distintas, e em sua maioria com o objetivo de entender o balanço autonômico em condições de exercício físico ou em doenças (KINGSLEY; FIGUEROA, 2016; SAITO et al., 2018). Na área da saúde os estudos se concentram para entender o efeito de diversas doenças sobre a VFC, como em diabéticos descrita em recente meta-análise de Benichou e colaboradores (2018) e até em pacientes diagnosticados com HA descrito em várias pesquisas (KISELEV et al., 2018; SAITO et al., 2018).

A HA acarreta em indivíduos uma disfunção autonômica e diminuição da sensibilidade barorreflexa, afetando diretamente a VFC (DOGRU et al., 2010; MOREIRA et al., 1992; SINSKI et al., 2006). Há uma escassez de estudos quando o objetivo é verificar a VFC como desfecho primário de pacientes com HA quando a população se trata de mulheres na pós menopausa, alguns mostram que parâmetros de predomínios vagais e globais são prejudicados nessas mulheres(KISELEV et al., 2018; MERCURO et al., 1999), mais estudos devem ser realizados para comprovar tal diagnose.

2. OBJETIVO

Objetivo geral

O objetivo desse estudo foi analisar o efeito da ingestão de uma dose de suco de beterraba com diferentes concentrações de NO_3^- na variabilidade de frequência cardíaca de mulheres hipertensas na pós menopausa

Hipótese

A hipótese alternativa desse trabalho é de que a ingestão do suco de beterraba aumentará a biodisponibilidade de nitrato no endotélio vascular e conseqüentemente ocasionará uma vasodilatação afetando o sistema nervoso autônomo e provocando mudança na variabilidade de frequência cardíaca dessas mulheres.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo cruzado, randomizado e duplo-cego. A pesquisa consistiu em quatro visitas ao laboratório, sendo, a primeira para assinatura de termos e medidas antropométricas e as outras três com ingestão de bebida e exercício em um período de *wash out* de pelo menos 7 dias entre elas, evitando assim, interferência entre as sessões.

As bebidas consumidas pelas voluntárias de maneira aleatorizada, foram: Suco de beterraba com alto teor de nitrato (High – NO_3^-), suco de beterraba com baixo teor de nitrato (Low – NO_3^-) e bebida não calórica sabor laranja (OFD). A intervenção foi realizada no Laboratório de Fisiologia Cardiorrespiratória e Metabólica - LAFICAM - da Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Uberlândia, MG, Brasil, sendo aprovada pelo comitê de ética (70104717.0.0000.5152) e registrada na plataforma do Clinicaltrials.gov (NCT03620227). Todas as voluntárias concordaram e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes de todo o procedimento. Os experimentos obedeceram aos princípios estabelecidos na Declaração da Associação Médica Mundial de Helsinque.

Participantes

Participaram deste estudo mulheres após a menopausa com idade entre 50 e 70 anos, fisicamente ativas e hipertensas controladas por medicamento. Os critérios de inclusão foram: estar na fase pós menopausa (amenorreia por pelo menos 12 meses e $[\text{FSH}] > 40$ Mui/Ml), ser diagnosticada com hipertensão arterial; ser capaz de realizar exercícios em esteira ergométrica; não fazer o uso de terapias hormonais; não ter histórico de alergias alimentares ou algum tipo de sensibilidade ao NO_3^- ; não apresentar histórico de acidente vascular encefálico ou infarto agudo do miocárdio; não ser diabético; não tabagista; não

utilizar medicamentos anti hipertensivos do tipo Beta bloqueadores. Adotamos como critérios de exclusão a incapacidade de adaptação ao protocolo do estudo.

O tamanho da amostra foi calculado usando o software G power 3.1 com alfa = 0,05 e poder de 0,8. O tamanho do efeito foi calculado com base na variação causada pelo SB em relação ao placebo na frequência de atividade nervosa simpática do músculo, resultando em um tamanho do efeito de 0,66 (NOTAY et al., 2017). Considerando que este estudo de Notay et al. (2017) realizou medidas mais diretas do sistema simpático do que o presente estudo, nós adotamos para o cálculo da amostra metade do tamanho do efeito encontrado (0,33). Usando um desenho de ANOVA de medidas repetidas entre indivíduos de dois fatores (três bebidas em sete momentos), resultou em pelo menos doze indivíduos.

Desenho do estudo

Em um primeiro momento as mulheres responderam a uma anamnese e um questionário de nível de atividade física (versão curta do IPAQ). Medidas antropométricas foram realizadas, como: massa corporal (balança eletrônica Filizola); altura (estadiômetro fixo Sanny); circunferência da cintura (fita Filizola); composição corporal (bioimpedância Inbody 230, Seul, Coreia do Sul). Para a medição da composição corporal, todas as participantes receberam uma cartilha de instruções, que aconselhavam a não realizar exercícios físicos vigorosos 24 horas antes do teste e evitar o consumo de alimentos ricos em NO_3^- e bebidas com álcool e cafeína 72 horas antes.

As voluntárias chegavam ao laboratório, em média, as 07:00 e saíam às 11:40, sendo acompanhadas e orientadas sempre pelo coordenador do estudo.

A figura 1 mostra o desenho experimental das sessões do estudo.



Figura 1. Desenho experimental das sessões.

As voluntárias chegavam ao laboratório as 07h00 e permaneciam em repouso, sentadas sem qualquer tipo de intervenção ou incômodo para a coleta da FC, que foi

medida durante os 20 minutos (-130') de descanso (entre 07h00 e 07h20), durante o exercício e durante os 90 minutos em 6 pontos (15',30',45',60',75',90') determinados para a análise após a sessão de exercício (Polar® RS800CX).

A ingestão de bebidas ocorreu 10 minutos após o período de coleta da FC (07h30), permitindo 15 minutos para o consumo de todo o conteúdo da bebida, permaneceram em repouso até as 9h30, para efeito do pico do SB no metabolismo (VANHATALO et al., 2010). A sessão de exercícios durou 40 minutos (das 09h30 às 10h00).

Durante as sessões, as voluntárias foram autorizadas a beber água, mas nenhuma outra bebida ou ingestão de alimentos foi permitida. Elas foram instruídas a evitar alimentos e bebidas ricos em NO_3^- a 24 h antes das sessões e receberam uma lista com as seguintes restrições de consumo: Vegetais verdes (amaranto, alface, couve, espinafre, brócolis, aipo, couve-flor, rabanete chinês), beterraba ou seu suco, linguiça, salame, presunto, peito de peru, café, bebidas energéticas, refrigerantes, bebidas alcoólicas e para evitar o uso de enxaguantes bucais. Antes de iniciar cada sessão de intervenção, as voluntárias foram questionadas sobre esses itens e caso tivessem ingerido algum desses alimentos, a sessão era remarcada.

Sessão de exercícios

O exercício físico foi realizado em uma esteira ergométrica (Moviment, RT 250) durante 40 minutos em uma intensidade moderada entre 65% a 70% de sua Frequência Cardíaca de Reserva (FCR), que é calculada a partir da fórmula de Karvonen $[(\text{FC}_{\text{máx}} - \text{FC}_{\text{repouso}}) \times \text{intensidade} + \text{FC}_{\text{repouso}}]$. Dentro dos 40 minutos da sessão de exercício os 5 primeiros minutos foram destinados para o aquecimento e os últimos 2 minutos para desaquecimento. A velocidade máxima da esteira foi determinada a 5,5km/h e o aumento da intensidade do exercício foi imposto através da inclinação do piso até que o voluntário atingisse a zona de intensidade esperada. A FC foi monitorada durante todo o exercício e a escala de Borg com numeração de 0 a 10 (BORG, 1982) foi utilizada para avaliar a percepção subjetiva de esforço (PSE). As medidas de FC e PSE foram analisadas a cada dois minutos, assim sempre que a FC estava fora da zona de intenção, a intensidade do exercício era ajustada.

Ingestão do suco de beterraba

A intervenção incluiu três bebidas diferentes: Suco de beterraba com alto teor de nitrato – High – NO_3^- ; suco de beterraba com baixo teor de nitrato – Low – NO_3^- ; e bebida não calórica sabor laranja – OFD; A ordem de ingestão de bebidas foi distribuída aleatoriamente para cada uma das voluntárias, usando um desenho de blocos

randomizados através do site (<https://www.random.org/lists/>). Para a randomização, os códigos foram atribuídos a cada voluntária, cada bebida e cada sessão. Posteriormente, a bebida que cada voluntária beberia na primeira sessão, a segunda e a terceira sessões foram alocadas aleatoriamente nessa ordem.

Um pesquisador que não participou do processo de coleta de dados foi responsável por pelo cegamento das bebidas, adicionando cada bebida à sua respectiva garrafa rotulada com o nome da voluntária. A bebida High – NO_3^- continha 20,78 mmol/kg de NO_3^- e consistia em 35 mL de suco de beterraba concentrado contendo 400 mg de NO_3^- (Beet-It Sport Shot, James White Drinks Ltd., Ipswich, Reino Unido), diluído em 315 mL de água destilada, e adicionada a 3 g de bebida não calórica em pó aromatizado com sabor laranja (Clight, Mondelez International, Inc., São Paulo, Brasil), totalizando 350 mL de suco. O Low – NO_3^- possuía 3,86 mmol/kg de NO_3^- e foi preparado filtrando o High – NO_3^- em uma resina de troca iônica, capaz de depletar o NO_3^- (PA101 OH-, Permutation®) (DE CASTRO et al., 2019), da mesma forma que em um relatório anterior (BONDONNO et al., 2015). Por fim, o OFD foi uma bebida com sabor de laranja não calórica, preparada pó de suco de laranja diluído em 350mL de água destilada. High – NO_3^- e Low – NO_3^- eram idênticos em sabor, enquanto OFD era ligeiramente diferente.

Cada voluntária recebeu a bebida designada em uma garrafa selada com tampa e canudo escuro, impossibilitando a visualização ou o cheiro do conteúdo da garrafa. As participantes do estudo tiveram 15 minutos para ingerir a bebida inteira.

Coleta e análise da variabilidade de frequência cardíaca

A FC foi coletada por 20 min na posição sentada (-130°), de 07h00 às 07h20 e também pós exercícios durante 90 minutos em um total de 6 pontos (15', 30', 45', 60', 75' e 90') separados por 15 minutos entre eles, sendo os 5 últimos minutos usados para a análise da VFC, com respiração espontânea, em uma sala bem iluminada e silenciosa, usando um monitor de batimentos cardíacos (Polar® RS800cx: Polar ElectroOi, Finlândia; frequência de amostragem, 1000 Hz) e sem a influência de estímulos.

Os dados da FC foram transferidos para um computador usando o Polar Pro trainer5® software (Polar Electro, Kempele, Finlândia), e os intervalos RR (RRi) foram visualmente inspecionados e os artefatos foram substituídos pela média dos valores adjacentes. As amostras foram selecionadas do intervalo de 300 segundos com o menor número de artefatos mais próximo do final da série temporal, e sinais com mais de 2% dos artefatos foram descartados para a análise da VFC (“Task Force”, 1996).

A análise da VFC foi realizada nos domínios de tempo, frequência e não lineares (“Task Force”, 1996) usando o software validado (TARVAINEN et al., 2014) (Kubios® HRV 3.0.0: University of Kuopio, Kuopio, Finlândia). Os índices analisados no domínio do tempo incluíram a raiz quadrada da média quadrática diferença de RRi sucessivo (RMSSD), o desvio padrão de todos os RRi normais (SDNN), e a porcentagem de RRi adjacente variando em mais de 50 milissegundos (pNN50). Para análise no domínio da frequência, as séries temporais foram interpoladas em 4 Hz. Em seguida, o sinal foi multiplicado pela janela de Hanning e uma transformada rápida de Fourier do produto foi calculada. Assim, as bandas espectrais foram calculadas através da integral da curva de densidade espectral de potência e especificada em baixa (LF: 0,04–0,15 Hz) e alta frequências (HF: 0,15–0,4 Hz), bem como a relação (LF / HF). LF e HF foram normalizadas (% LF e % HF, respectivamente), representando a contribuição relativa de cada componente à potência total menos o componente de frequência muito baixa. Para as medidas não lineares foram analisados os índices de plotagem de Poincaré e também o desvio padrão da variabilidade instantânea do intervalo batimento a batimento (SD1) e variabilidade a longo prazo do RRi contínuo (SD2) foram analisados, juntamente com a razão (SD2 / SD1).

Coleta e análise de saliva

Utilizamos o método cuspe para a coleta da saliva, sendo que as voluntárias tinham 2 minutos para realizar finalizar todo o processo (NAVAZESH, 1993), em seguida as amostras foram centrifugadas por 20 minutos a 3500rpm, posteriormente foram separados 2 tubos de 0,5ml cada e armazenados em ultra freezers à -80°C até o início das análises.

Através das amostras analisamos a quantidade de nitrito (NO_2^-) salivar para estimar a biodisponibilidade de NO. O NO_2^- foi analisado por microplacas com 50 uL de saliva e observados a 570nm na leitora de microplacas. O conteúdo de NO_2^- foi calcula por meio de uma curva padrão, determinadas por NANO^2 e com concentrações em 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 uM. Os métodos e os resultados da análise de saliva foram apresentados anteriormente em Amaral et.al., 2019, estudo antecessor a este.

Análise estatística

Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a normalidade dos dados e a ANOVA bidirecional foi usada para analisar as diferenças entre os pontos de tempo (pré e pós-exercício) e os tratamentos (High – NO_3^- , Low – NO_3^- e OFD) e as interações entre eles. O valor adotado para significância estatística foi de $\alpha = 0,05$. Todas as análises foram executadas no

software SPSS versão 20 (IBMSPSS, Chicago, IL, EUA) e no GraphPad Prism 8 (GraphPad Prism Inc., San Diego, CA, EUA).

4. RESULTADOS

Expusemos nossos resultados através da publicação do artigo nomeado: *Beetroot juice intake with different amounts of nitrate does not change aerobic exercise-mediated responses in heart rate variability in hypertensive postmenopausal women: A randomized, crossover and double-blind study*. O estudo foi publicado no *Jornal of Exercise Science and Fitness* (Volume 19, issue 2, pag: 104-110 em Abril de 2021), aceito no dia 13 de Dezembro de 2020 e ficou disponível para a leitura a partir do dia 18 de Dezembro de 2020 através do DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jesf.2020.12.001>. A partir da próxima página uma cópia do artigo na íntegra foi autorizada como fonte de resultados para este estudo.

Beetroot juice intake with different amounts of nitrate does not change aerobic exercise-mediated responses in heart rate variability in hypertensive postmenopausal women: A randomized, crossover and double-blind study

Victor Hugo V. Carrijo a, Ana Luiza Amaral a, Igor M. Mariano a, Tállita Cristina F. de Souza a, Jaqueline P. Batista a, Erick P. de Oliveira b, Guilherme M. Puga a.

a Laboratory of Cardiorespiratory and Metabolic Physiology, Physical Education and Physical Therapy Department, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG, 38400-678, Brazil

b Laboratory of Nutrition, Exercise and Health (LaNES), School of Medicine, Federal University of Uberlandia (UFU), Uberlandia, Minas Gerais, Brazil NO₃⁻

Abstract

Background/Objective: To compare the acute effects of a single dose of beetroot juice (BJ) with different concentrations of nitrate (NO₃⁻) on heart rate variability (HRV) in postmenopausal hypertensive women.

Methods: Thirteen hypertensive postmenopausal women (58.1 ± 4.6 years of age and 27 ± 4 kg/m² of BMI) completed the protocol that consisted of three visits with different beverage intakes in a randomized and crossover design. The three beverages were BJ with a high content of nitrate (high-NO₃⁻), BJ with a low content of nitrate (low - NO₃⁻), and an orange flavored non-caloric drink (OFD). Heart rate (HR) were evaluated during 20 min after sitting rest at 7:20 a.m. (baseline), after they drank one of the drinks, and remained at sitting rest for 120 min and then performed 40 min of aerobic exercise at 65-70% of the HR reserve on a treadmill. HR was recorded for 90 min after exercise for time, frequency, and non-linear domains of HRV index analysis.

Results: Two-way ANOVA showed that there were no interaction effects (time*sessions) in any of the HRV indexes after exercise in all three sessions. HRV indexes increased after exercise (p = <0.05) similarly in all three sessions when compared with the baseline time point.

Conclusion: Therefore, a single dose of BJ, independent of NO₃⁻ content, does not change aerobic exercise mediated responses in HRV indexes in hypertensive postmenopausal women.

Introduction

Postmenopausal women can present cardiovascular and endocrine metabolic changes, such as reduced estrogen production, increased fat mass, oxidative stress, and inflammatory markers.^{1,2} These factors can lead to a higher incidence and development of cardiovascular and metabolic diseases; therefore, during this period of life women are more susceptible to endothelial and autonomic dysfunction and hypertension (HT).^{3,4} Women affected by HT usually have autonomic nervous system (ANS) dysfunction affecting blood pressure (BP) control and heart rate variability (HRV). HRV is largely used as an index of sympathetic and parasympathetic control in the heart; thus, monitoring HRV responses has been shown to be an important tool for assessing autonomic function.^{5,6}

A healthy lifestyle is strongly recommended for the prevention and treatment of HT, especially adequate eating habits and practicing physical exercises.⁷ The benefits of aerobic exercises training on HRV, BP, and endothelium-mediated dilation are well reported in the literature, and these improvements are mainly related through the release of nitric oxide (NO).⁶⁻⁹ NO plays a protective role in the endothelium and the reduction of its bioavailability can cause damage to the individual's vascular function.¹⁰

The intake of beverages with a high nitrate (NO_3^-) content, such as beetroot juice (BJ), can be a good strategy to increase the bioavailability of NO.¹¹⁻¹⁴ The intake of BJ during⁴⁻⁶ days can be sufficient to increase the amount of NO_3^- in the body and induces several physiological benefits in different types of patients, reducing BP in obese elderly and young adults, or improving endothelial function markers in older adults at risk of developing cardiovascular diseases.^{11,12,14-16}

Only few studies have investigated the effects of BJ ingestion on cardiovascular markers such as HRV; thus, making it imperative to understand the function of autonomic system responses after the intake of a NO_3^- diet source. Some of them have shown that a diet containing high amounts of NO_3^- is directly associated with improvements in HRV, both in animal models and in humans.^{17,18} These findings suggest that the intracellular NO/cGMP pathway can alter the cardiomyocyte signaling. Notay et al.¹⁹ showed that acute NO_3^- intake can decrease the central sympathetic flow in young people. Similar conclusions were observed by Bond et al.²⁰ in African descent women in which the intake of BJ reduced BP and improved HRV. More recently, Benjamin et al.²¹ also showed that beetroot extract intake acutely improved cardiovascular and autonomic recovery after exercise in young healthy male adults.

So, new strategies are necessary for a better understanding and control of cardiovascular disease, such as HT. In this way, the dietary supplementation with NO_3^- can be dependent on the dose to increase plasma NO_3^- and decrease BP in healthy young men.²² However, it may not be effective in short-term approach to further lower BP in treated hypertensive elderly.²³ Therefore, besides these results are still inconclusive, they reinforce the need to understand its effects in hypertensive patients. In addition, the data available about different populations that could benefit from NO_3^- supplementation are still limited. In this way, we highlighted postmenopausal women that usually had worse autonomic function with decrease HRV, increase BP and endothelial dysfunction.²⁻⁴ We believe that NO_3^- supplementation would be an alternative for ANS regulation, consequently increasing HRV and improving BP in this population.

Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of a single dose of BJ intake with a high and low NO_3^- content on HRV indexes after an acute aerobic exercise in hypertensive postmenopausal women. We hypothesized that the consumption of BJ with a high NO_3^- content could promote additional improvements in HRV responses mediated by a single session of aerobic exercise in hypertensive postmenopausal women.

Materials and Methods

In the present study, the authors have used the secondary outcome(s) of previous study published by Amaral et al.,²⁴ that investigated the BP responses using the same methods. It was a crossover, randomized and double-blind study that consisted of four visits to the laboratory. The first visit was performed to sign the informed consent form and to measure the anthropometric parameters, while the other three visits occurred in a random order to evaluate the effects of an acute aerobic exercise session plus the intake of non-caloric orange flavored drink (OFD), BJ with a low nitrate content (low- NO_3^-), or BJ with a high nitrate content (high- NO_3^-) on HRV indexes. The washout period between the interventions were at least 7 days. The intervention was performed at the Cardiorespiratory and Metabolic Physiology Laboratory at the Federal University of Uberlândia, being approved by the ethics committee (70104717.0.0000.5152) and registered on the Clinicaltrials.gov platform (NCT03620227). The study followed the CONSORT statement and the principles established in the World Medical Association Declaration of Helsinki. All the volunteers agreed and signed a free and informed consent form before the entire procedure.

Participants

The characteristics of the participants were the same described by Amaral et al.²⁴ They were postmenopausal hypertensive women aged 50e70 years who were physically active and had HT controlled by medication use. All the volunteers presented stage 1 hypertension, according with Brazilian Cardiology Society²⁵, that considers hypertension stage 1 the patients with baseline blood pressure values greater or equal to 140 mmHg for systolic blood pressure (SBP) and 90 mmHg for diastolic blood pressure (DBP), and not higher than 160 mmHg for SBP and 100 mmHg for DBP. The inclusion criteria were: diagnosis of postmenopausal (amenorrhea for at least 12 months and [FSH] >40 mUI/ml), being able to perform exercises on a treadmill, not using hormonal therapies, not having a history of food allergies or any type of sensitivity to NO₃⁻, not having a history of stroke or acute myocardial infarction, nondiabetic and non-smoker, and who did not use beta blockers as anti-hypertensive.

The sample size was calculated using G*power 3.1 with alpha = 0.05 and power of 0.8. The effect size was calculated based on the variation caused by BJ compared to placebo in the muscle sympathetic nerve activity frequency, resulting in an effect size of 0.66.¹⁹ Considering that this study¹⁹ performed more direct measurements of the sympathetic system than the present study, we adopted for the sample calculation half of the effect size found (0.33). Using a design of repeated measures ANOVA between individuals of two factors (three beverages in seven moments), resulted in at least twelve individuals.

Study Design

The volunteers arrived at the laboratory facilities at 07:00 a.m. and performed the evaluations until ~11:40 a.m. They were always accompanied and guided by the study coordinator. Fig. 1 shows the experimental design of the study sessions.

After the participants arrived, all volunteers remained at rest sitting without any type of intervention or discomfort for heart rate (HR) recording during the 20 min (baseline) between 7:00 a.m. and 7:20 a.m. Beverage was taken 10 min after the HR collection period (7:30 a.m.), and was consumed over 15 min. Exercise started 2 h after the beginning of ingestion to reach BJ contents peak in the blood.²⁶ The aerobic exercise session lasted 40 min (from 9:30 a.m. to 10:10 a.m.), then the HR was recorded using a Polar® RS800CX HR monitor (Polar Electro Oy, Oulu, Finland) during 90 min after exercise at rest sitting position. For the HRV analysis, we determined the rest point after the volunteers arrived at the beginning of the study day (baseline) and the post-exercise moments (15', 30', 45', 60', 75', 90'). During all sessions, the volunteers were not

allowed to drink or ingest food, with the exception of the water that was consumed in minimal quantity because of the exercise session. The women were instructed to continue with the same eating habits during the intervention days, avoiding only NO₃⁻ rich foods 24 h before the sessions. A list of the following consumption restrictions was given: green vegetables (amaranth, lettuce, cabbage, spinach, broccoli, celery, cauliflower and Chinese radish), beet or its juice, sausage, salami, ham, turkey breast, coffee, energy drinks, soft drinks, and alcoholic beverages. The individuals were also instructed to avoid the use of antiseptic mouthwashes. Before starting each intervention session, the volunteers were asked about the adherence to these recommendations; and if they had ingested any of these foods, the session was rescheduled.

The order of beverage intake was randomly distributed to each of the volunteers, using a randomized block design through a website (<https://www.random.org/lists/>). For randomization, codes were assigned to each volunteer, each drink, and each session. Subsequently, the beverage that each volunteer would drink in the first, second, and third sessions were randomly allocated. A researcher who did not participate in the data collection was responsible for blinding the beverages.

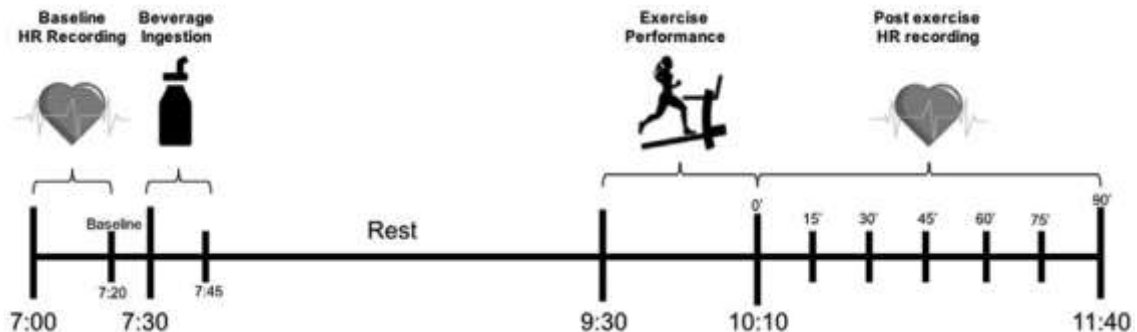


Fig. 1. Study design.

Physical exercise protocol

Aerobic exercise was performed on a treadmill (RT 250, Movement) for 40 min at moderate intensity between 65 and 70% of their HR reserve, which was estimated by the equation: $[(HR_{max} - \text{resting HR}) \times \text{intensity}\% + \text{resting HR}]$. The first 5 min were used to warm up and the last 2 min to cool down during 40 min of exercise. The maximum speed of the treadmill was 5.5 km/h and exercise intensity was imposed by treadmill inclination until the volunteer reached the expected intensity zone. HR was monitored throughout the entire exercise and the Borg scale from 0 to 10 was used to assess rate of

perceived exertion (RPE).²⁷ The HR and RPE measurements were analyzed every 2 min, so whenever the HR was outside the zone of intention, the intensity of the exercise was adjusted.

Beverage intake

The intervention included three different drinks: non-caloric OFD, BJ with a low-NO₃⁻ content, and BJ with a high-NO₃⁻ content. The high-NO₃⁻ drink contained 20.78 mmol/kg of NO₃⁻ and consisted of 35 ml concentrated BJ containing 400 mg of NO₃⁻ (Beet-It Sport Shot, James White Drinks Ltd., Ipswich, United Kingdom) diluted in 315 ml of distilled water with 6 g of non-caloric orange flavor powder (Clight, Mondelez International, Inc., São Paulo, Brazil), totaling 350ml of juice. The low-NO₃⁻ drink was the same amount of juice described above, but with 3.86 mmol/kg of NO₃⁻ because it was prepared filtering the high-NO₃⁻ BJ in an ion exchange resin capable of depleting NO (PA101 OH⁻, Permution®, Curitiba, Brazil), as previously reported.^{23,28} Finally, the OFD was prepared with 6 g non-caloric orange flavor powder diluted in 350 ml of distilled water. Each volunteer received the designated drink in a sealed bottle with a lid and dark straw, making it impossible to see or smell the contents of the bottle. Study participants had 15 min to drink the entire beverage. Our study used a standard BJ with high amount of NO₃⁻ (400 mg) that is commercialized and used in most of the studies. The BJ with low amount of NO₃⁻ was used because the method that filtered the high-NO₃⁻ BJ in an ion exchange resin is not capable of depleting all the NO₃⁻ in the beverage. Therefore, the nitrate amount present in low-NO₃⁻ dose (3.86 mmol/kg) was the minimum value that we were able to achieve from depleting the juice through the resin (PA101 OH⁻, Permution®, Curitiba, Brasil). We chose to add a non-caloric orange-flavored drink (OFD) in both BJ, as beetroot contains several biologically active nutrients in addition to inorganic nitrate that could generate some unexpected response. In this way, we were able to isolate the effect on nitrate regardless of other nutritional factors.

Salivary samples collection and nitrite (NO₂⁻) analysis

Saliva sample were collected to estimate NO₂⁻ concentration at rest, before exercise, immediately after and 90 min after exercise. These methods are described in Amaral et al.²⁴ study. Saliva was collected by spit method and centrifuged to separate the supernatant and to analyze NO₂⁻ concentration by Griess method.²⁹

Heart rate data collection and heart rate variability analysis

The HR was both recorded in a rest sitting position during 20 min (baseline) from 7:00 a.m. to 7:20 a.m. and also during 90 min after exercise with spontaneous breathing,

in a well-lit and silent room, using a HR monitor (Polar Eletro Oy, Finland; sampling, 1000Hz) and without the influence of stimuli. We used a total of six time points (15', 30', 45', 60', 75' and 90') for data analysis that consisted in the 5 min preceding each time point (i.e., 150 time point consisted in the HRV from 100 to 15'). HR data was transferred to a computer using Polar ProTrainer 5® software (Polar Electro, Kempele, Finland) and the RR intervals (RRi) were visually inspected and artifacts were replaced by the mean of the adjacent values. The samples were selected from the 300s interval with the least number of artifacts closest to the end of the time series and signals with >2% of the artifacts were discarded for HRV analysis.³⁰

HRV analysis was performed in the time, frequency and, nonlinear domains using validated software (Kubios® HRV 3.0.0: University of Kuopio, Kuopio, Finland).^{30,31} The indexes analyzed in the time domain included the square root of the quadratic mean difference of successive RRi (RMSSD), the standard deviation of all normal RRi (SDNN), and the percentage of adjacent RRi varying by more than 50ms (PNN50). For frequency domain analysis, the time series were interpolated at 4 Hz and the signal from the linear trend component was removed using the smooth priors technique. Then the signal was multiplied by the Hanning window in a fast Fourier transform of the product and was calculated. Thus, the spectral bands were calculated using the integral of the power spectral density curve and specified as low (LF: 0.04e0.15 Hz) and high frequencies (HF: 0.15e0.4 Hz), as well as the ratio (LF/HF). LF and HF were normalized (% LF and % HF, respectively). For non-linear measurements, Poincaré plot indexes and the standard deviation of the instant variability of the beat-to-beat interval (SD1) and long-term variability of the continuous RRi (SD2), together with the ratio (SD2/SD1) were used.

Statistical analysis

The results are presented as mean \pm standard deviation. The Shapiro-Wilk test was applied to verify the normality of the data and the Two-way ANOVA was used to analyze the differences between the time points (pre and post-exercise) and the difference between the juices (high- NO₃⁻, low- NO₃⁻, and OFD) as well the interaction between them, with a Bonferroni post hoc test. The value adopted for statistical significance was $p < 0.05$. The area under the curve (AUC) by the trapezoidal method was used to make the figures, comparing the responses of HRV according to the intake of NO₃⁻ over time. All analyzes were performed using SPSS software version 20 (IBMSPPSS, Chicago, IL, USA) and GraphPad Prism 8 (GraphPad Prism Inc., San Diego, CA, USA).

Results

After the sample calculation, fifteen volunteers were recruited and two of them were excluded because they did not complete the study design correctly after the first session; thus, 13 women completed the study protocol. The women were 58.1 ± 4.6 years; with a body mass of 69.9 ± 9.2 kg; body mass index of 27 ± 4 kg/m²; waist circumference of 92.9 ± 11.7 cm; fat mass of 26.1 ± 6.9 kg; and lean mass of 29.9 ± 9.2 kg. None of the women were sedentary, three were irregularly active and 10 were active or very active according with IPAQ questionnaire of physical activity level, described in Amaral et al.²⁴ All women were under antihypertensive drug therapies (ten were using angiotensin 1 receptor blocker drug, two were using angiotensin converting enzyme inhibitor, and one was using diuretic treatments), three of them were using statins and four Levothyroxine.

The three exercise sessions were performed with similar intensity ($p > 0.05$) and no differences were found between the HR average of the sessions (low- NO₃⁻ 125.6 ± 7.2 bpm, high- NO₃⁻ 126.7 ± 7.4 bpm and for the OFD 126.1 ± 7.8 bpm). As expected, salivary NO₂⁻ concentration did not change in the OFD session over time, and its area under the curve (AUC) over 90 min after exercise was approximately six times higher after high- NO₃⁻ session comparing with OFD session; and three times higher than low- NO₃⁻ session. These data were previously published and described in Amaral et al.²⁴ study.

Figs. 2 and 4 show HRV responses over time (baseline and 15', 30', 45', 60', 75' and 90' post-exercise) during all three sessions (high- NO₃⁻, low- NO₃⁻ and OFD sessions) in frequency, time, and non-linear domains. Fig. 2 shows HRV analysis in the time domain: SDNN, RMSSD, and PNN50 indexes. There were no interactions (time*sessions) in any of the indexes among sessions, but only SDNN increased over time ($p < 0.05$) similarly after exercise compared with the baseline in all three sessions, with no difference in the other indexes.

Fig. 3 shows HRV analysis in the frequency domain: LF, HF and LF/HF indexes. There were no interactions (time*sessions) in any of the indexes between sessions. LF and LF/HF indexes similarly increased after exercise in all three sessions. For the non-linear domain of HRV analysis, we did not find any interactions, but all indexes (SD1 band, SD2, and SD2/SD1) increased after exercise in all three sessions (Fig. 4).

Discussion

This study aimed to compare the acute effects of a single dose of BJ intake with high and low amounts of NO₃⁻ on HRV indexes after aerobic exercise in postmenopausal hypertensive women. Our results showed that, independent of the amount of NO₃⁻, the

intake of BJ did not change HRV responses mediated by moderate exercise in any of the time, frequency, or non-linear HRV domains. Besides this, moderate aerobic exercise increased some of the HRV indexes, especially in frequency and non-linear domains in hypertensive postmenopausal women, with no additive effects of BJ intake. It is important to mention that the present study evaluated the secondary outcomes of a previous study²⁴ that investigated other cardiovascular parameters, such as blood pressure. This study²⁴ also did not find any difference in blood pressure-mediated responses after aerobic exercise comparing the ingestion of those three beverages. So, in our study we focus in HR and HRV analysis.

The HRV analysis is a simple and non-invasive method of investigating the autonomic balance, and is an important outcome because it is a predictor of mortality from cardiovascular disease, and autonomic dysfunction.^{30,32} A sympathetic increase and a drop in vagal distribution may lead to cardiac problems.³² Low variability is a sign of little ANS adaptation and high variability means good health conditions.³⁰ Moreover, the linear and non-linear domains make the assessment more effective and make the individual's autonomic balance more visible; however, the effectiveness of HRV analysis in populations with chronic diseases, such as hypertension, especially in relation to exercise, is not well known.

The ingestion of food or beverage rich in NO_3^- increases NO bioavailability and this response can play an important role in autonomic control and consequently in HRV.^{18,20,26} The intake of BJ with high amounts of NO_3^- can increase plasma nitrite and nitrate around 3-fold and up to 7-fold in saliva.²³ Moreover, NO has an important protective role for the endothelium and the reduction of its bioavailability can cause changes in the vascular function.³³ NO also can act in blood pressure regulation through the solitary tract nucleus, which receives afferent nerves from arterial baroreceptors and plays an important role in the reflex of these baroreceptors.³⁴ Therefore, based on this information, beetroot juice intake with high inorganic nitrate (an NO precursor) would generate greater baroreflex changes and thus cause an improvement in HRV in hypertensive individuals. On the other hand, we believe that participants whom ingested the BJ with low $[\text{NO}_3^-]$ may not alter these responses and, if there are some effects, it probably will not be due to the high-background nitrate diet pathways.

Some studies also suggest that there is a relationship between NO/cGMP pathway and intracellular transduction signaling of cardiac myocytes, impacting on autonomic function and HRV indexes, such as LF/HF and SDNN.^{17,18} Thus, based on these

information, we hypothesized that BJ intake could promote additional improvements on HRV indexes after aerobic exercise because postmenopausal women with HT have lower cardiac autonomic modulation, reflecting a lower vagal and global HRV parameter.^{35,36} Our study failed to confirm this hypothesis and we believe that the lack of effect induced by BJ intake occurred because the aerobic exercise was able to improve the HRV by itself. Even with a likely increase in NO bioavailability after the intake of BJ with high dose of NO₃⁻, the autonomic function may have reached its limit of change induced by exercise alone.

It is important to note that the women evaluated in the present study presented well-controlled BP due to the use of antihypertensive drugs. However, it is well known that individuals with HT can suffer from deleterious effects, such as endothelial dysfunction and different autonomic responses.^{35 - 37} Therefore, it is possible to suggest that the intake of BJ would have different effects on HRV in patients with higher and/or uncontrolled blood pressure, or autonomic dysfunction; this gap in the literature should be explored in future studies.

Hypertensive individuals have autonomic dysfunctions and high blood pressure, which are associated with a greater activation of the sympathetic nervous system in addition to lower baroreflex sensitivity.^{8,38} Impaired baroreflex sensitivity can induce a decrease in HRV while high HRV can be an indication of normal baroreflex activity, showing how ANS adapts to external mechanical stimuli.³⁹⁻⁴¹ A study by Guzzeti et al.⁴² tested the hypothesis that more effective sympathetic activity would regulate BP in hypertensive patients using HRV analyzes and found that LF was higher and HF was lower in hypertensive compared to normotensive individuals.

Several studies investigated the beneficial effects of BJ intake, associated or not with exercise, in different populations, varying from athletes (effects on performance) to patients with cardiovascular diseases.^{23,24,28,43,44} It is important to note that the analysis of HRV as the primary outcome is scarce in the literature, even in studies that evaluated the HR.^{12,23}

Bond et al.²⁰ evaluated the effects of BJ and aerobic exercise in young healthy African American women and found improvements in SDNN time domain index and in SBP at rest and during aerobic exercise. This increase in SDNN may indicate less sympathetic activity which was inversely associated a to SBP in these women. In another study by Notay et al.,¹⁹ BJ ingestion decreased resting muscle sympathetic nerve activity and attenuated muscle sympathetic activation during handgrip exercise, with no changes

in blood pressure response in healthy young men and women. Despite the similar design, the previous studies evaluated different populations when compared with our research, which can explain the differences in results. The populations, the concentrations of BJ administered, the exercises and their intensities were different between the previous studies and ours, causing different changes in the ASN and directly affecting the HRV. In addition, none of the aforementioned studies evaluated post-exercise HRV responses for 90 min as in our study.

Recently, Benjamin et al.²¹ showed that beetroot extract can acutely improve both cardiovascular and autonomic recovery after resistance exercise in healthy young adults. In this study, the HRV index (in time and non-linear domains) responses after exercise were similar to ours, showing that the exercise improved postexercise HRV. Although the authors concluded that beetroot extract improved HRV and cardiovascular responses, we believe that they have an inconsistent statistical analysis, using only one-way ANOVA to compare the time effect but did not compare the sessions effect and interaction (time*sessions) as we did use the two-way ANOVA.

Despite our results, we suggest that additional studies evaluating the HRV responses to BJ ingestion and exercise in the hypertensive population are still necessary. To our knowledge, this is the first study to focus on the analyzes of HRV responses after aerobic exercise associated with ingestion of BJ with different NO₃⁻ concentrations. We understand the limitations of the study regarding hypertensive drugs of different classes administered by the volunteers and they may have masked the effect of NO₃⁻ on HRV. Ingestion and measures in a short period of time can also be a limitation, so the results cannot be extrapolated to chronic intervention responses. So, we suggest the easy applicability of HRV as a non-invasive and non-expensive method to assess autonomic regulation.

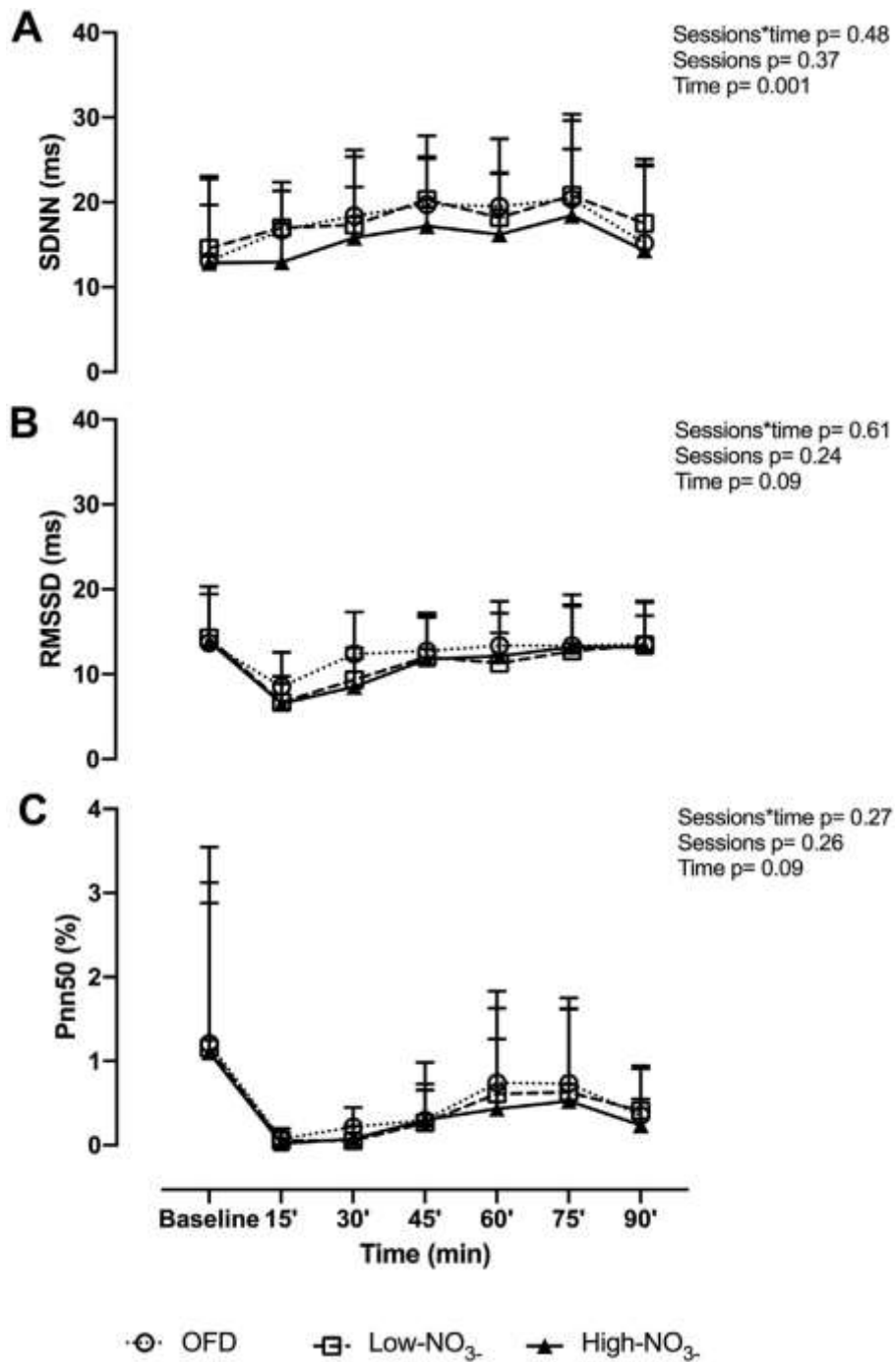


Fig. 2. Values in Mean \pm Standard Deviation of Heart Rate Variability analysis in time domain at baseline before beverage ingestion and at 15', 30', 45', 60', 75', and 90' time points after exercise during all three experimental sessions. Standard deviation of RRI intervals e SDNN (A); Square root of the quadratic mean difference of successive RRI e RMSSD (B); Percentage of adjacent RRI that varies at least 50 ms e Pnn50 (C). OFD - non-caloric orange flavored drink; Low- NO₃⁻ Beetroot juice with low nitrate content; High- NO₃⁻ beetroot juice with high nitrate content.

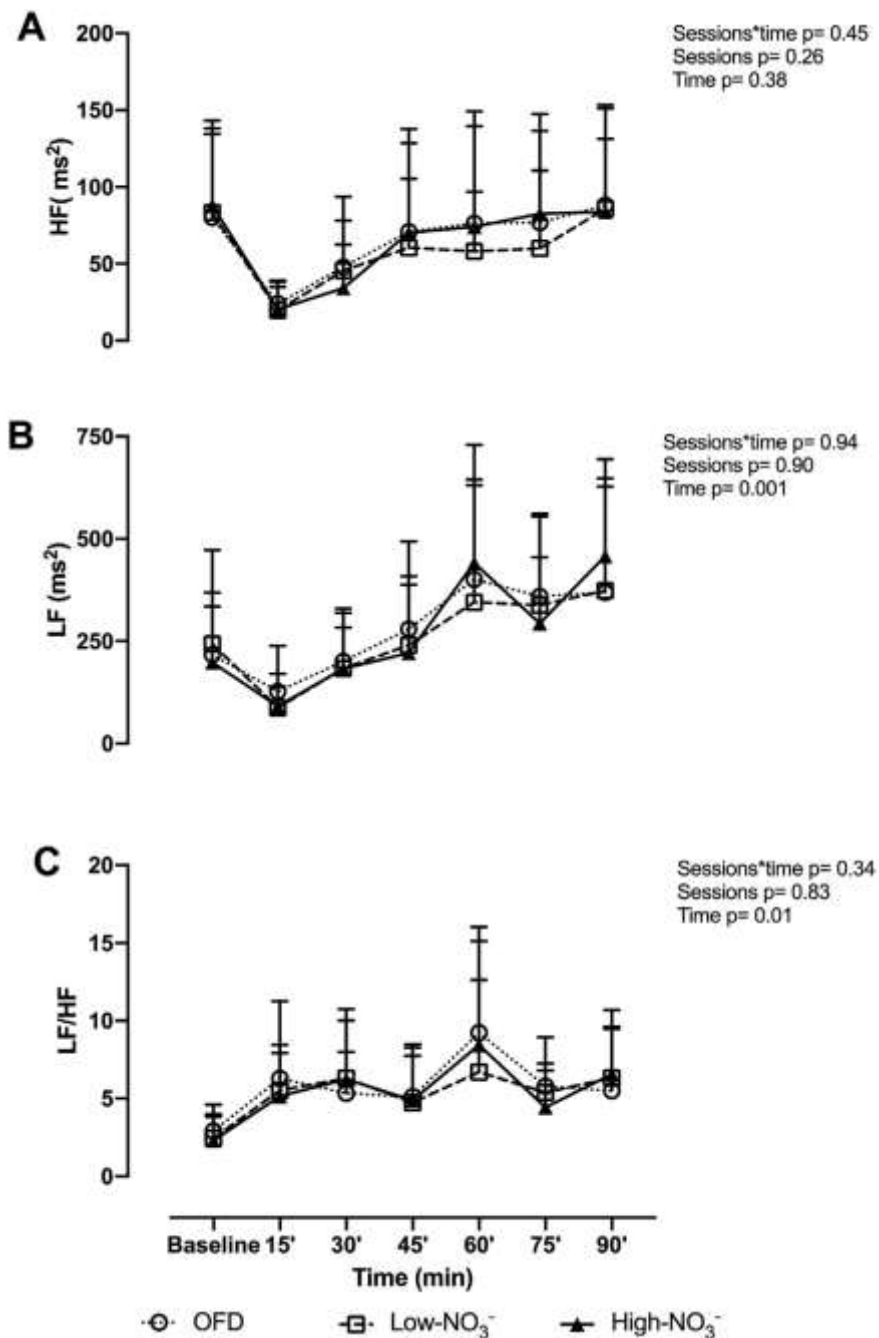


Fig. 3. Values in Mean \pm Standard Deviation of Heart Rate Variability analysis in frequency domain at baseline before beverage ingestion and at 15', 30', 45', 60', 75', and 90' time points after exercise during all three experimental sessions. High frequency band - HF (A); Low frequency band - LF (B); Low and high frequencies ratio - LF/HF (C). OFD - non-caloric orange flavored drink; Low- NO₃⁻ Beetroot juice with low nitrate content; High- NO₃⁻ beetroot juice with high nitrate content.

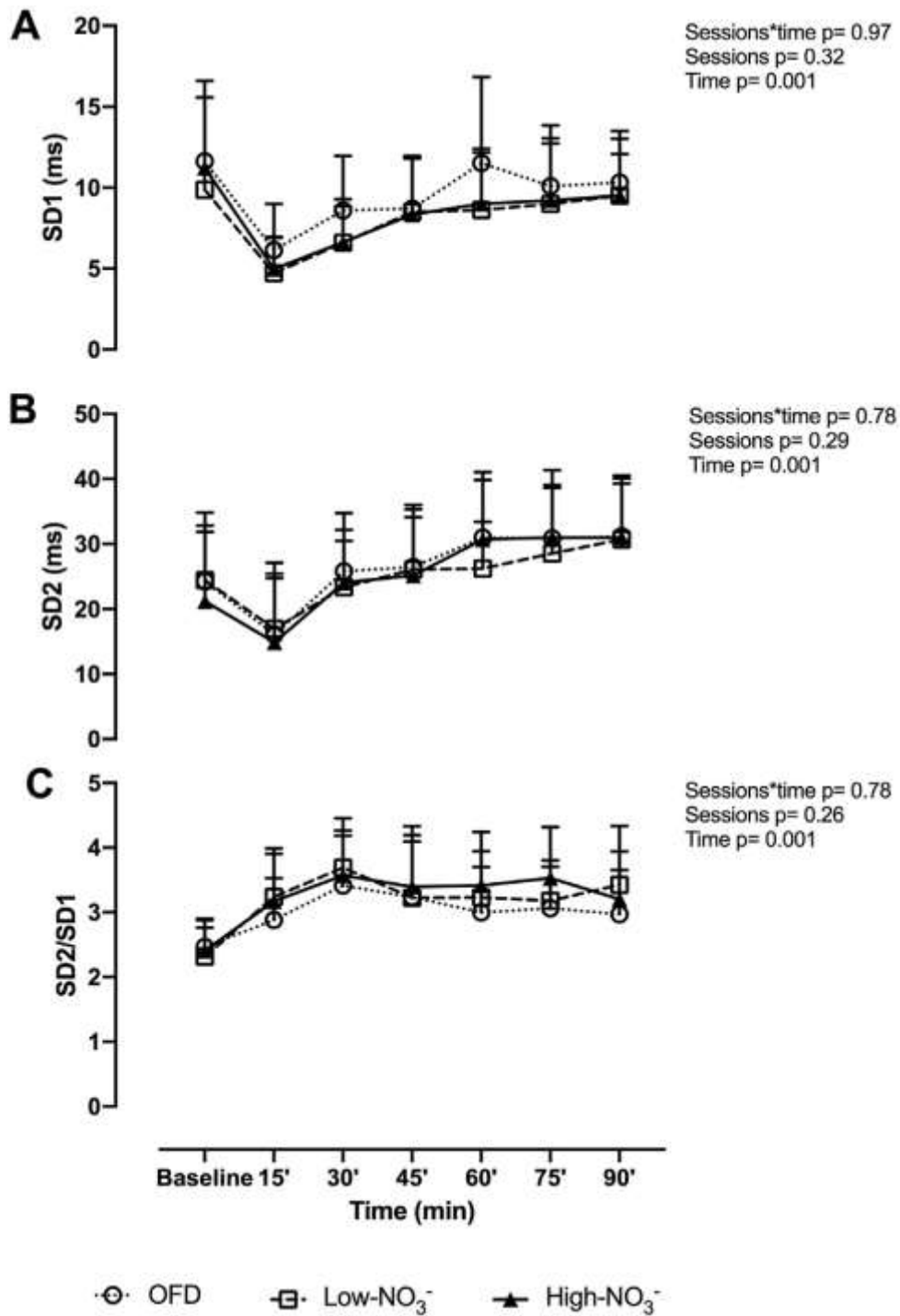


Fig. 4. Values in Mean \pm Standard Deviation of Heart Rate Variability analysis in nonlinear domain at baseline before beverage ingestion and 15', 30', 45', 60', 75', and 90' time points after exercise during all three experimental sessions. Standard deviation of the instant variability of the beat-to-beat interval e SD1 (A); long-term variability of continuous RRi e SD2 (B); SD1/SD2 ratio (C). OFD - non-caloric orange flavored drink; Low- NO₃⁻ - Beetroot juice with low nitrate content; High- NO₃⁻ - beetroot juice with high nitrate content.

Conclusion

In conclusion, a single dose of BJ, independent of NO_3^- content, does not change aerobic exercise-mediated responses in HRV indexes in time, frequency, and non-linear domains in hypertensive postmenopausal women.

Author statement

VHVC: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Resources, Data Curation, Writing – Original Draft, Writing - Review & Editing.

ALA: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Resources, Data Curation, Writing – Original Draft, Writing - Review & Editing.

GMP: Conceptualization, Methodology, Resources, Data Curation, Writing – Original Draft, Writing - Review & Editing, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

IMM: Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Data Curation, Writing - Review & Editing.

TCFS: Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Data Curation, Writing - Review & Editing.

JPB: Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Data Curation, Writing - Review & Editing.

EPO: Conceptualization, Methodology, Resources, Writing – Review & Editing, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

Author's contributions

VHVC, ALA and GMP participated in data collection, analysis of results, writing, discussion, conclusion and review. IMM, TCFS and JBP participated in data collection, discussion and review of the material. EPO participated in writing, discussion and review of the material.

Declaration of competing interest

The authors declare that there is no conflict of interest in the paper.

Acknowledgments and Authorships

This work was funded by the Minas Gerais State Research Foundation (FAPEMIG) (APQ-01874-18) and Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel e CAPES.

References

1. Knowlton AA, Korzick DH. Estrogen and the female heart. *Mol Cell Endocrinol*. 2014;389(1-2):31e39. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.01.002>.
2. Lagranha CJ, Silva TLA, Silva SCA, et al. Protective effects of estrogen against cardiovascular disease mediated via oxidative stress in the brain. *Life Sci*. 2018;192:190e198. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.11.043>.
3. Coylewright M, Reckelhoff JF, Ouyang P. Menopause and hypertension: an ageold debate. *Hypertension*. 2008;51(4):952e959. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.105742>.
4. Reboussin DM, Allen NB, Griswold ME, 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 task force on clinical practice guidelines. *Hypertension*. 2018;71(6): e116ee135. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000067>.
5. Malik M, Camm AJ. Components of heart rate variability—what they really mean and what we really measure. *Am J Cardiol*. 1993;72(11):821e822. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(93\)91070-x](https://doi.org/10.1016/0002-9149(93)91070-x).
6. Sandercock GRH, Bromley PD, Brodie DA. Effects of exercise on heart rate variability: inferences from meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc*. 2005;37(3): 433e439. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000155388.39002.9d>.
7. Gomes Anunciação P, Doederlein Polito M. A review on post-exercise hypotension in hypertensive individuals. *Arq Bras Cardiol*. 2011;96(5):e100e109.
8. Dogru MT, Sims, ek V, Sahin O, Ozer N. Differences in autonomic activity in individuals with optimal, normal, and high-normal blood pressure levels. *Turk Kardiyol Dernegi Arsivi*. 2010;38(3):182e188.
9. Pearson MJ, Smart NA. Exercise therapy and autonomic function in heart failure patients: a systematic review and meta-analysis. *Heart Fail Rev*. 2018;23(1): 91e108. <https://doi.org/10.1007/s10741-017-9662-z>.
10. Loscalzo J. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circ Res*. 2001;88(8):756e762. <https://doi.org/10.1161/hh0801.089861>.
11. Bailey SJ, Winyard P, Vanhatalo A, et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to highintensity exercise in

- humans. *J Appl Physiol.* 2009;107(4):1144e1155. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00722.2009>.
12. Kelly J, Fulford J, Vanhatalo A, et al. Effects of short-term dietary nitrate supplementation on blood pressure, O₂ uptake kinetics, and muscle and cognitive function in older adults. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2013;304(2):R73eR83. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00406.2012>.
13. Guldiken B, Toydemir G, Nur Memis K, Okur S, Boyacioglu D, Capanoglu E. Home processed red beetroot (*Beta vulgaris* L.) products: changes in antioxidant properties and bioaccessibility. *Int J Mol Sci.* 2016;17(6). <https://doi.org/10.3390/ijms17060858>.
14. Sweazea KL, Johnston CS, Miller B, Gumprich E. Nitrate-rich fruit and vegetable supplement reduces blood pressure in normotensive healthy young males without significantly altering flow-mediated vasodilation: a randomized, double-blinded, controlled trial. *J Nutr Metab.* 2018;2018:1729653. <https://doi.org/10.1155/2018/1729653>.
15. Rammos C, Hendgen-Cotta UB, Sobierajski J, Bernard A, Kelm M, Rassaf T. Dietary nitrate reverses vascular dysfunction in older adults with moderately increased cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(15):1584e1585. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.08.691>.
16. Raubenheimer K, Hickey D, Leveritt M, et al. Acute effects of nitrate-rich beetroot juice on blood pressure, hemostasis and vascular inflammation markers in healthy older adults: a randomized, placebo-controlled crossover study. *Nutrients.* 2017;9(11). <https://doi.org/10.3390/nu9111270>.
17. Markos F, Snow HM, Kidd C, Conlon K. Inhibition of neuronal nitric oxide reduces heart rate variability in the anaesthetised dog. *Exp Physiol.* 2001;86(5): 539e541. <https://doi.org/10.1113/eph8602257>.
18. Pekdemir H, Cicek D, Camsari A, et al. The relationship between plasma endothelin-1, nitric oxide levels, and heart rate variability in patients with coronary slow flow. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2004;9(1):24e33. <https://doi.org/10.1111/j.1542-474x.2004.91522.x>.
19. Notay K, Incognito AV, Millar PJ. Acute beetroot juice supplementation on sympathetic nerve activity: a randomized, double-blind, placebo-controlled proof-of-concept study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2017;313(1):H59eH65. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00163.2017>.

20. Bond V, Curry BH, Adams RG, et al. Effects of nitrate supplementation on cardiovascular and autonomic reactivity in african-american females. *ISRN Physiol.* 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/676235>.
21. Benjamim CJR, Júnior FWS, Figueir[^]edo M de, et al. Beetroot (Beta Vulgaris L.) extract acutely improves heart rate variability recovery following strength exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial-pilot study. *J Am Coll Nutr.* 2020;1e10. <https://doi.org/10.1080/07315724.2020.1774441>, 0(0).
22. Wylie LJ, Kelly J, Bailey SJ, et al. Beetroot juice and exercise: pharmacodynamic and dose-response relationships. *J Appl Physiol.* 2013;115(3):325e336. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00372.2013>.
23. Bondonno CP, Liu AH, Croft KD, 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(2):368e375. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.101188>.
24. Amaral AL, Mariano IM, Carrijo VHV, et al. A Single dose of beetroot juice does not change blood pressure response mediated by acute aerobic exercise in hypertensive postmenopausal women. *Nutrients.* 2019;11(6):1327. <https://doi.org/10.3390/nu11061327>.
25. Malachias M v b. 7th Brazilian guideline of arterial hypertension: presentation. *Arq Bras Cardiol.* 2016;107(3 suppl 3). <https://doi.org/10.5935/abc.20160140>, 0.
26. Vanhatalo A, Bailey SJ, Blackwell JR, 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(4):R1121eR1131. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00206.2010>.
27. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc.* 1982;14(5):377e381.
28. de Castro TF, 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 Metabol.* 2019;44(1):90e94. <https://doi.org/10.1139/apnm-2018-0277>.
29. 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(6 Pt 2):H2224eH2231. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1995.268.6.H2224>.

30. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Eur Heart J*. 1996;17(3):354e381.
31. Tarvainen MP, Niskanen J-P, Lipponen JA, Ranta-Aho PO, Karjalainen PA. Kubios HRV–heart rate variability analysis software. *Comput Methods Progr Biomed*. 2014;113(1):210e220. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2013.07.024>.
32. Cygankiewicz I, Zareba W. Heart rate variability. In: *Handbook of Clinical Neurology*. vol. 117. Elsevier; 2013:379e393. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53491-0.00031-6>.
33. Chaswal M, Das S, Prasad J, Katyal A, Fahim M. Chemical sympathectomy restores baroreceptor-heart rate reflex and heart rate variability in rats with chronic nitric oxide deficiency. *Physiol Res*. 2015;64(4):459e466. <https://doi.org/10.33549/physiolres.932804>.
34. Jimbo M, Suzuki H, Ichikawa M, Kumagai K, Nishizawa M, Saruta T. Role of nitric oxide in regulation of baroreceptor reflex. *J Auton Nerv Syst*. 1994;50(2): 209e219. [https://doi.org/10.1016/0165-1838\(94\)90011-6](https://doi.org/10.1016/0165-1838(94)90011-6).
35. Mercuro G, Longu G, Zoncu S, Cherchi A. Impaired forearm blood flow and vasodilator reserve in healthy postmenopausal women. *Am Heart J*. 1999;137(4 Pt 1):692e697. [https://doi.org/10.1016/s0002-8703\(99\)70225-5](https://doi.org/10.1016/s0002-8703(99)70225-5).
36. Kiselev AR, Neufeld IW, Bobyleva IV, Prokhorov MD, Karavaev AS. Interaction between cardiovascular autonomic control and sex hormones in perimenopausal women under menopausal hormone therapy. *Cardiovasc Endocrinol Metab*. 2018;7(3):58e63. <https://doi.org/10.1097/XCE.0000000000000153>.
37. Agita A, Alsagaff MT. Inflammation, immunity, and hypertension. *Acta Med Indones*. 2017;49(2):158. <http://www.actamedindones.org/index.php/ijim/article/view/506>. Accessed July 31, 2020.
38. Moreira ED, Ida F, Oliveira VL, Krieger EM. Early depression of the baroreceptor sensitivity during onset of hypertension. *Hypertension*. 1992;19(2 Suppl): II198e201. https://doi.org/10.1161/01.hyp.19.2_suppl.ii198.
39. Piepoli M, Sleight P, Leuzzi S, et al. Origin of respiratory sinus arrhythmia in conscious humans. An important role for arterial carotid baroreceptors. *Circulation*. 1997;95(7):1813e1821. <https://doi.org/10.1161/01.cir.95.7.1813>.

40. Lanfranchi PA, Somers VK. Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002;283(4):R815eR826. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00051.2002>.
41. Sinski M, Lewandowski J, Abramczyk P, Narkiewicz K, Gaciong Z. Why study sympathetic nervous system? *J Physiol Pharmacol*. 2006;57(Suppl 11):79e92.
42. Guzzetti S, Piccaluga E, Casati R, et al. Sympathetic predominance in essential hypertension: a study employing spectral analysis of heart rate variability. *J Hypertens*. 1988;6(9):711e717. <https://doi.org/10.1097/00004872-198809000-00004>.
43. Zamani P, Rawat D, Shiva-Kumar P, et al. Effect of inorganic nitrate on exercise capacity in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation*. 2015;131(4):371e380. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.012957>. discussion 380.
44. Clifford T, Bell O, West DJ, Howatson G, Stevenson EJ. The effects of beetroot juice supplementation on indices of muscle damage following eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2016;116(2):353e362. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3290-x>.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado em nossos resultados podemos considerar que a ingestão de suco de beterraba independente da concentração de NO_3^- associada a uma sessão de exercício não foi capaz de alterar a VFC de mulheres hipertensas na pós menopausa. Apesar de alguns estudos demonstrarem que essa ingestão pode melhorar alguns parâmetros cardiovasculares como o fluxo sanguíneo e a pressão arterial, as respostas já mediadas pelos exercícios não são alteradas pela ingestão aguda do suco de beterraba. Para futuras produções, são necessários ensaios clínicos randomizados que analisem os efeitos agudos e crônicos da ingestão dessa bebida, associada à prática de exercícios em pacientes hipertensos e/ou com doenças cardiometabólicas. Assim, apesar da ingestão do suco de beterraba aumentar a biodisponibilidade do NO, essa estratégia pode não ser eficaz para o controle e regulação das respostas autonômicas da variabilidade da frequência cardíaca.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. U. et al. Desenvolvimento e estado nutricional da beterraba em função da omissão de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 292–295, jun. 2008.
<https://doi.org/10.1590/S0102-05362008000200033>

AMARAL, A.L. et al. A Single dose of beetroot juice does not change blood pressure response mediated by acute aerobic exercise in hypertensive postmenopausal women. **Nutrients**. 2019;11(6):1327.
<https://doi.org/10.3390/nu11061327>

ANTUNES, S.; MARCELINO, O.; AGUIAR, T. Fisiopatologia da menopausa. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 19, n. 4, p. 353–357, 2003.

ASHOR, A. W.; LARA, J.; SIERVO, M. Medium-term effects of dietary nitrate supplementation on systolic and diastolic blood pressure in adults: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Hypertension**, v. 35, n. 7, p. 1353–1359, 2017.
<https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000001305>

AUBERT, A. E.; SEPS, B.; BECKERS, F. Heart rate variability in athletes. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 33, n. 12, p. 889–919, 2003.
<https://doi.org/10.2165/00007256-200333120-00003>

BAILEY, S. J. et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 107, n. 4, p. 1144–1155, out. 2009.
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00722.2009>

BEDALE, W.; SINDELAR, J. J.; MILKOWSKI, A. L. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. **Meat Science**, v. 120, p. 85–92, out. 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.009>

BENICHO, T. et al. Heart rate variability in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, v. 13, n. 4, p. e0195166, 2018.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195166>

BESNIER, F. et al. Short-term effects of a 3-week interval training program on heart rate variability in chronic heart failure. A randomised controlled trial. **Annals of Physical and Rehabilitation Medicine**, v. 62, n. 5, p. 321–328, set. 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.rehab.2019.06.013>

BETTERIDGE, S. 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, Md.: 1985)**, v. 120, n. 4, p. 391–398, 15 fev. 2016.
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00658.2015>

BOND, V. et al. Effects of Nitrate Supplementation on Cardiovascular and Autonomic Reactivity in African-American Females. **ISRN Physiology**, v. 2014, 23 fev. 2014.
<https://doi.org/10.1155/2014/676235>

BONDONNO, C. 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.

- The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, n. 2, p. 368–375, ago. 2015.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.114.101188>
- BONILLA OCAMPO, D. A. et al. Dietary Nitrate from Beetroot Juice for Hypertension: A Systematic Review. **Biomolecules**, v. 8, n. 4, 02 2018.
<https://doi.org/10.3390/biom8040134>
- BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377–381, 1982.
<https://doi.org/10.1249/00005768-198205000-00012>
- BORRELLI, F.; ERNST, E. Alternative and complementary therapies for the menopause. **Maturitas**, v. 66, n. 4, p. 333–343, ago. 2010.
<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2010.05.010>
- CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 417–423, 2002.
<https://doi.org/10.1590/S0102-86502002000600011>
- CHOWDHARY, S.; TOWNEND, J. N. Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control. **Clinical Science (London, England: 1979)**, v. 97, n. 1, p. 5–17, jul. 1999.
<https://doi.org/10.1042/cs0970005>
- CLIFFORD, T. et al. The effects of beetroot juice supplementation on indices of muscle damage following eccentric exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 2, p. 353–362, fev. 2016.
<https://doi.org/10.1007/s00421-015-3290-x>
- COOKE, W. H. et al. Controlled breathing protocols probe human autonomic cardiovascular rhythms. **The American Journal of Physiology**, v. 274, n. 2 Pt 2, p. H709-718, fev. 1998.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1998.274.2.H709>
- CORNELISSEN, V. A.; SMART, N. A. Exercise training for blood pressure: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Heart Association**, v. 2, n. 1, p. e004473, 1 fev. 2013.
<https://doi.org/10.1161/JAHA.112.004473>
- COSTA, J. et al. Effects of weight changes in the autonomic nervous system: A systematic review and meta-analysis. **Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 38, n. 1, p. 110–126, fev. 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.01.006>
- COYLEWRIGHT, M.; RECKELHOFF, J. F.; OUYANG, P. Menopause and hypertension: an age-old debate. **Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)**, v. 51, n. 4, p. 952–959, abr. 2008.
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.105742>
- CURTIS, K. J. et al. Acute Dietary Nitrate Supplementation and Exercise Performance in COPD: A Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomised Controlled Pilot Study. **PloS One**, v. 10, n. 12, p. e0144504, 2015.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144504>

CYGANKIEWICZ, I.; ZAREBA, W. Heart rate variability. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 117, p. 379–393, 2013.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53491-0.00031-6>

DE CASTRO, T. F. et al. Effect of beetroot juice supplementation on 10-km performance in recreational runners. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition Et Metabolisme**, v. 44, n. 1, p. 90–94, jan. 2019.

<https://doi.org/10.1139/apnm-2018-0277>

DE PAULA, T. et al. Acute Effect of Aerobic and Strength Exercise on Heart Rate Variability and Baroreflex Sensitivity in Men With Autonomic Dysfunction. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 33, n. 10, p. 2743–2752, out. 2019.

<https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002372>

DOGRU, M. T. et al. Differences in autonomic activity in individuals with optimal, normal, and high-normal blood pressure levels. **Turk Kardiyoloji Dernegi Arsivi: Turk Kardiyoloji Derneginin Yayin Organidir**, v. 38, n. 3, p. 182–188, abr. 2010.

FILGUEIRA, F. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. **Viçosa:UFV**, p. 401, 2000.

GOMES ANUNCIÇÃO, P.; DOEDERLEIN POLITO, M. A review on post-exercise hypotension in hypertensive individuals. **Arquivos Brasileiros De Cardiologia**, v. 96, n. 5, p. e100-109, maio 2011.

<https://doi.org/10.1590/S0066-782X2011005000025>

GULDIKEN, B. et al. Home-Processed Red Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Products: Changes in Antioxidant Properties and Bioaccessibility. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, 1 jun. 2016.

<https://doi.org/10.3390/ijms17060858>

HAUTALA, A. J.; KIVINIEMI, A. M.; TULPPO, M. P. Individual responses to aerobic exercise: the role of the autonomic nervous system. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 33, n. 2, p. 107–115, fev. 2009.

<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.04.009>

HON, E.; LEE, S. Electronic evaluations of the fetal heart rate patterns preceding fetal death: further observations. **Am J Obstet Gynecol**, p. 814–826, 1965.

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

Disponível em: <D <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv98887.pdf>>.

Acesso em: 22 abr. 2020

KAPIL, V. et al. Dietary nitrate provides sustained blood pressure lowering in hypertensive patients: a randomized, phase 2, double-blind, placebo-controlled study. **Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)**, v. 65, n. 2, p. 320–327, fev. 2015.

<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04675>

KELLY, J. et al. Effects of short-term dietary nitrate supplementation on blood pressure, O₂ uptake kinetics, and muscle and cognitive function in older adults. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, n. 2, p. R73-83, 15 jan. 2013.

<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00406.2012>

KINGSLEY, J. D.; FIGUEROA, A. Acute and training effects of resistance exercise on heart rate variability. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 36, n. 3, p. 179–187, maio 2016.

<https://doi.org/10.1111/cpf.12223>

KISELEV, A. R. et al. Interaction between cardiovascular autonomic control and sex hormones in perimenopausal women under menopausal hormone therapy.

Cardiovascular Endocrinology & Metabolism, v. 7, n. 3, p. 58–63, set. 2018.

<https://doi.org/10.1097/XCE.0000000000000153>

KLEIGER, R. E. et al. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. **The American Journal of Cardiology**, v. 59, n. 4, p. 256–262, 1 fev. 1987.

[https://doi.org/10.1016/0002-9149\(87\)90795-8](https://doi.org/10.1016/0002-9149(87)90795-8)

KLEIGER, R. E.; STEIN, P. K.; BIGGER, J. T. Heart rate variability: measurement and clinical utility. **Annals of Noninvasive Electrocardiology: The Official Journal of the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology, Inc**, v. 10, n. 1, p. 88–101, jan. 2005.

<https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.2005.10101.x>

KNOWLTON, A. A.; KORZICK, D. H. Estrogen and the female heart. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 389, n. 1–2, p. 31–39, 25 maio 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.01.002>

KORSAGER LARSEN, M.; MATCHKOV, V. V. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, v. 52, n. 1, p. 19–27, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.medici.2016.01.005>

LAGRANHA, C. J. et al. Protective effects of estrogen against cardiovascular disease mediated via oxidative stress in the brain. **Life Sciences**, v. 192, p. 190–198, jan. 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.11.043>

LOSCALZO, J. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. **Circulation Research**, v. 88, n. 8, p. 756–762, 27 abr. 2001.

<https://doi.org/10.1161/hh0801.089861>

MALACHIAS, M. V. B. et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 1 - Conceituação, Epidemiologia e Prevenção Primária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, p. 1–6, set. 2016.

MALIK, M.; CAMM, A. J. Components of heart rate variability--what they really mean and what we really measure. **The American Journal of Cardiology**, v. 72, n. 11, p. 821–822, 1 out. 1993.

[https://doi.org/10.1016/0002-9149\(93\)91070-X](https://doi.org/10.1016/0002-9149(93)91070-X)

MARKOS, F. et al. Inhibition of neuronal nitric oxide reduces heart rate variability in the anaesthetised dog. **Experimental Physiology**, v. 86, n. 5, p. 539–541, set. 2001.

<https://doi.org/10.1113/eph8602257>

MARTINS-PINGE, M. C. Cardiovascular and autonomic modulation by the central nervous system after aerobic exercise training. **Brazilian Journal of Medical and**

Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas, v. 44, n. 9, p. 848–854, set. 2011.

<https://doi.org/10.1590/S0100-879X2011007500102>

MASALA, G. et al. Physical activity and blood pressure in 10,000 Mediterranean adults: The EPIC-Florence cohort. **Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD**, v. 27, n. 8, p. 670–678, ago. 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2017.06.003>

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

<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.04.017>

MERCURO, G. et al. Impaired forearm blood flow and vasodilator reserve in healthy postmenopausal women. **American Heart Journal**, v. 137, n. 4 Pt 1, p. 692–697, abr. 1999.

[https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(99\)70225-5](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(99)70225-5)

MOREIRA, E. D. et al. Early depression of the baroreceptor sensitivity during onset of hypertension. **Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)**, v. 19, n. 2 Suppl, p. II198-201, fev. 1992.

https://doi.org/10.1161/01.HYP.19.2_Suppl.II198

NAVAZESH, M. Methods for Collecting Saliva. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 694, n. 1, p. 72–77, 1993.

<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x>

NOTAY, K.; INCOGNITO, A. V.; MILLAR, P. J. Acute beetroot juice supplementation on sympathetic nerve activity: a randomized, double-blind, placebo-controlled proof-of-concept study. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 313, n. 1, p. H59–H65, 1 jul. 2017.

<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00163.2017>

PARK, H.-Y. et al. Twelve Weeks of Aerobic Exercise at the Lactate Threshold Improves Autonomic Nervous System Function, Body Composition, and Aerobic Performance in Women with Obesity. **Journal of Obesity & Metabolic Syndrome**, v. 29, n. 1, p. 67–75, 30 mar. 2020.

<https://doi.org/10.7570/jomes19063>

PEARSON, M. J.; SMART, N. A. Exercise therapy and autonomic function in heart failure patients: a systematic review and meta-analysis. **Heart Failure Reviews**, v. 23, n. 1, p. 91–108, 2018.

<https://doi.org/10.1007/s10741-017-9662-z>

PEKDEMIR, H. et al. The Relationship between Plasma Endothelin-1, Nitric Oxide Levels, and Heart Rate Variability in Patients with Coronary Slow Flow. **Annals of Noninvasive Electrocardiology : The Official Journal of the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology, Inc**, v. 9, n. 1, p. 24–33, 21 jan. 2004.

<https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.2004.91522.x>

PESCATELLO, L. S. et al. Exercise for Hypertension: A Prescription Update Integrating Existing Recommendations with Emerging Research. **Current**

Hypertension Reports, v. 17, n. 11, p. 87, nov. 2015.
<https://doi.org/10.1007/s11906-015-0600-y>

POORTMANS, J. R.; GUALANO, B.; CARPENTIER, A. Nitrate supplementation and human exercise performance: too much of a good thing? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 18, n. 6, p. 599–604, nov. 2015.
<https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000222>

RAFFIN, J. et al. Exercise Frequency Determines Heart Rate Variability Gains in Older People: A Meta-Analysis and Meta-Regression. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 49, n. 5, p. 719–729, maio 2019.
<https://doi.org/10.1007/s40279-019-01097-7>

RAIMUNDO, R. D. et al. Heart Rate Variability in Stroke Patients Submitted to an Acute Bout of Aerobic Exercise. **Translational Stroke Research**, v. 4, n. 5, p. 488–499, out. 2013.
<https://doi.org/10.1007/s12975-013-0263-4>

RAJENDRA ACHARYA, U. et al. Heart rate variability: a review. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 44, n. 12, p. 1031–1051, dez. 2006.
<https://doi.org/10.1007/s11517-006-0119-0>

RAMMOS, C. et al. Dietary nitrate reverses vascular dysfunction in older adults with moderately increased cardiovascular risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 63, n. 15, p. 1584–1585, 22 abr. 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.08.691>

RAUBENHEIMER, K. et al. Acute Effects of Nitrate-Rich Beetroot Juice on Blood Pressure, Hemostasis and Vascular Inflammation Markers in Healthy Older Adults: A Randomized, Placebo-Controlled Crossover Study. **Nutrients**, v. 9, n. 11, 22 nov. 2017.
<https://doi.org/10.3390/nu9111270>

ROMERO, S. A.; MINSON, C. T.; HALLIWILL, J. R. The cardiovascular system after exercise. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 122, n. 4, p. 925–932, 1 abr. 2017.
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00802.2016>

SAITO, I. et al. Association Between Heart Rate Variability and Home Blood Pressure: The Toon Health Study. **American Journal of Hypertension**, v. 31, n. 10, p. 1120–1126, 11 2018.
<https://doi.org/10.1093/ajh/hpy100>

SANDERCOCK, G. R. H.; BROMLEY, P. D.; BRODIE, D. A. Effects of exercise on heart rate variability: inferences from meta-analysis. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 37, n. 3, p. 433–439, mar. 2005.
<https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000155388.39002.9D>

SANTOS, L. P. et al. Effects of aerobic exercise intensity on ambulatory blood pressure and vascular responses in resistant hypertension: a crossover trial. **Journal of Hypertension**, v. 34, n. 7, p. 1317–1324, 2016.
<https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000961>

- SCHULTZ, H. D. Nitric oxide regulation of autonomic function in heart failure. **Current Heart Failure Reports**, v. 6, n. 2, p. 71–80, jun. 2009.
<https://doi.org/10.1007/s11897-009-0012-x>
- SINSKI, M. et al. Why study sympathetic nervous system? **Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society**, v. 57 Suppl 11, p. 79–92, nov. 2006.
- SWEAZEA, K. L. et al. Nitrate-Rich Fruit and Vegetable Supplement Reduces Blood Pressure in Normotensive Healthy Young Males without Significantly Altering Flow-Mediated Vasodilation: A Randomized, Double-Blinded, Controlled Trial. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2018, p. 1729653, 2018.
<https://doi.org/10.1155/2018/1729653>
- TAKAHASHI, T. A.; JOHNSON, K. M. Menopause. **The Medical Clinics of North America**, v. 99, n. 3, p. 521–534, maio 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.mcna.2015.01.006>
- TARVAINEN, M. P. et al. Kubios HRV--heart rate variability analysis software. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 113, n. 1, p. 210–220, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2013.07.024>
- Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. **Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use.**, v. 93, n. 5, p. 1043–1065, 1 mar. 1996.
- TUOMIKOSKI, P.; SAVOLAINEN-PELTONEN, H. Vasomotor symptoms and metabolic syndrome. **Maturitas**, v. 97, p. 61–65, mar. 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.12.010>
- VANDERLEI, L. C. M. et al. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 24, n. 2, p. 205–217, jun. 2009.
<https://doi.org/10.1590/S0102-76382009000200018>
- 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 of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 299, n. 4, p. R1121-1131, out. 2010.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00206.2010>
- VILLAFAINA, S. et al. Physical Exercise Improves Heart Rate Variability in Patients with Type 2 Diabetes: A Systematic Review. **Current Diabetes Reports**, v. 17, n. 11, p. 110, 23 set. 2017.
<https://doi.org/10.1007/s11892-017-0941-9>
- YOUNG, D. R. et al. Sedentary Behavior and Cardiovascular Morbidity and Mortality: A Science Advisory From the American Heart Association. **Circulation**, v. 134, n. 13, p. e262-279, 27 2016.
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000440>
- ZANESCO, A.; ANTUNES, E. Effects of exercise training on the cardiovascular system: pharmacological approaches. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 114, n. 3, p.

307–317, jun. 2007.

<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.03.010>

ZILBERMAN, J. M. et al. Association Between Hypertension, Menopause, and Cognition in Women. **Journal of Clinical Hypertension (Greenwich, Conn.)**, v. 17, n. 12, p. 970–976, dez. 2015.

<https://doi.org/10.1111/jch.12643>

7. ANEXOS

Journal of Exercise Science & Fitness 19 (2021) 104–110



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Exercise Science & Fitness

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jesf



Beetroot juice intake with different amounts of nitrate does not change aerobic exercise-mediated responses in heart rate variability in hypertensive postmenopausal women: A randomized, crossover and double-blind study



Victor Hugo V. Carrijo ^a, Ana Luiza Amaral ^a, Igor M. Mariano ^a,
Tállita Cristina F. de Souza ^a, Jaqueline P. Batista ^a, Erick P. de Oliveira ^b,
Guilherme M. Puga ^{a,*}

^a Laboratory of Cardiorespiratory and Metabolic Physiology, Physical Education and Physical Therapy Department, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG, 38400-678, Brazil

^b Laboratory of Nutrition, Exercise and Health (LaNES), School of Medicine, Federal University of Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 October 2020

Received in revised form

13 December 2020

Accepted 13 December 2020

Available online 18 December 2020

Keywords:

Inorganic nitrate

Exercise

Hypertension

Menopause

Autonomic nervous system

ABSTRACT

Background/Objective: To compare the acute effects of a single dose of beetroot juice (BJ) with different concentrations of nitrate (NO₃) on heart rate variability (HRV) in postmenopausal hypertensive women. **Methods:** Thirteen hypertensive postmenopausal women (58.1 ± 4.6 years of age and 27 ± 4 kg/m² of BMI) completed the protocol that consisted of three visits with different beverage intakes in a randomized and crossover design. The three beverages were BJ with a high content of nitrate (high-NO₃), BJ with a low content of nitrate (low-NO₃), and an orange flavored non-caloric drink (OFD). Heart rate (HR) were evaluated during 20 min after sitting rest at 7:20 a.m. (baseline) after they drank one of the drinks, and remained at sitting rest for 120 min and then performed 40 min of aerobic exercise at 65–70% of the HR reserve on a treadmill. HR was recorded for 90 min after exercise for time, frequency, and non-linear domains of HRV index analysis.

Results: Two-way ANOVA showed that there were no interaction effects (time*sessions) in any of the HRV indexes after exercise in all three sessions. HRV indexes increased after exercise ($p < 0.05$) similarly in all three sessions when compared with the baseline time point.

Conclusion: Therefore, a single dose of BJ, independent of NO₃ content, does not change aerobic exercise-mediated responses in HRV indexes in hypertensive postmenopausal women.

© 2020 The Society of Chinese Scholars on Exercise Physiology and Fitness. Published by Elsevier (Singapore) Pte Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

Postmenopausal women can present cardiovascular and endocrine metabolic changes, such as reduced estrogen production, increased fat mass, oxidative stress, and inflammatory markers.^{1,2} These factors can lead to a higher incidence and development of cardiovascular and metabolic diseases; therefore, during this period of life women are more susceptible to endothelial and

autonomic dysfunction and hypertension (HT).^{3,4} Women affected by HT usually have autonomic nervous system (ANS) dysfunction affecting blood pressure (BP) control and heart rate variability (HRV). HRV is largely used as an index of sympathetic and parasympathetic control in the heart; thus, monitoring HRV responses has been shown to be an important tool for assessing autonomic function.^{5,6}

A healthy lifestyle is strongly recommended for the prevention and treatment of HT, especially adequate eating habits and practicing physical exercises.⁷ The benefits of aerobic exercises training on HRV, BP, and endothelium-mediated dilation are well reported in the literature, and these improvements are mainly related through the release of nitric oxide (NO).^{8–9} NO plays a protective

* Corresponding author. Faculdade de Educação Física, Universidade Federal de Uberlândia, Rua Benjamin Constant, 1286, Bairro: Aparecida, Uberlândia, MG, 38400-678, Brazil.

E-mail address: gmpuga@gmail.com (G.M. Puga).

<https://doi.org/10.1016/j.jesf.2020.12.001>

1728-859X/© 2020 The Society of Chinese Scholars on Exercise Physiology and Fitness. Published by Elsevier (Singapore) Pte Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

C316 2021	<p>Carrijo, Victor Hugo Vilarinho, 1998- O efeito de uma dose de suco de beterraba associado ao exercício físico aeróbico na variabilidade da frequência cardíaca de mulheres hipertensas após a menopausa: um estudo cruzado, duplo cego e randomizado [recurso eletrônico] / Victor Hugo Vilarinho Carrijo. - 2021.</p> <p>Orientador: Guilherme Morais Puga . Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Fisioterapia. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.323 Inclui bibliografia.</p> <p>1. Linguística. I. , Guilherme Morais Puga,1982-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Fisioterapia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 801</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia
 Rua Benjamim Constant, 1286 - Bairro Aparecida, Uberlândia-MG, CEP 38400-678
 Telefone: (34) 3218-2928 - www.faeff.ufu.br/ppgfisio - secretaria.ppgfisio@faeff.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Fisioterapia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 25, PPGFISIO				
Data:	25/06/2021	Hora de início:	08:30	Hora de encerramento:	11:00
Matrícula do Discente:	11912FST002				
Nome do Discente:	Victor Hugo Vilarinho Carrijo				
Título do Trabalho:	O efeito de uma dose de suco de beterraba associado ao exercício físico aeróbico na variabilidade da frequência cardíaca de mulheres hipertensas após a menopausa: um estudo cruzado, duplo cego e randomizado				
Área de concentração:	Avaliação e Intervenção em Fisioterapia				
Linha de pesquisa:	Processos de Avaliação e Intervenção Fisioterapêutica dos Sistemas Cardiorrespiratório e Neurológico				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Efeitos da suplementação de suco de beterraba nas respostas hemodinâmicas, metabólicas e inflamatórias mediadas pelo exercício físico em mulheres pós-menopausadas				

Reuniu-se de forma remota através do Serviço de Conferência Web da RNP (Rede Nacional de Pesquisa), a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia, assim composta: Professores Doutores: Nádia Carla Cheik - UFU; Ana Carolina Kanitz - UFRGS; Guilherme Morais Puga - PPGFISIO/UFU, orientador(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Guilherme Morais Puga, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Moraes Puga, Membro de Comissão**, em 25/06/2021, às 11:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nadia Carla Cheik, Membro de Comissão**, em 25/06/2021, às 11:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **ANA CAROLINA KANITZ, Usuário Externo**, em 25/06/2021, às 11:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2800981** e o código CRC **ED705B43**.