




## Efeitos agudos do exercício contrarresistência com restrição de fluxo sanguíneo na função endotelial e agregação plaquetária

### Acute effects of blood flow restriction resistance exercise on endothelial function and platelet aggregation

Claudia Mello Meirelles<sup>1</sup> , Marcio Lopes Fernandes Júnior<sup>2</sup> , Cristiane Matsuura<sup>3</sup> , Paulo Sergio Chagas Gomes<sup>3</sup> 

1. Escola de Educação Física do Exército, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

2. Universidade Estácio de Sá, Campus Duque de Caxias 2, Duque de Caxias, RJ, Brasil

3. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, RJ, Brasil

#### RESUMO

**Objetivo:** Comparar a função endotelial e a agregação plaquetária após exercícios contrarresistência de baixa intensidade com restrição do fluxo sanguíneo (BI-RFS) ou fluxo sanguíneo livre (BI-FSLivre) e alta intensidade com fluxo sanguíneo livre (AI-FSLivre) em adultos saudáveis. **Métodos:** Dez homens saudáveis ( $23 \pm 3$  anos) realizaram três ensaios experimentais envolvendo *leg press* bilateral e extensão de joelho em um delineamento cruzado randomizado: BI-RFS (3 x 15 repetições a 30% 1RM), BI-FSLivre (3 x 15 repetições a 30% 1RM) e AI-FSLivre (3 x 8 repetições a 80% 1RM). A RFS foi mantida em 50% da pressão de oclusão total individual durante as três séries, e foi liberada após o final da série 3. A dilatação fluxo-mediada da artéria braquial (DILA) foi medida com ultrassom com Doppler antes e após o exercício. O sangue foi coletado para determinar as concentrações de nitrito e a agregação plaquetária. **Resultados:** Nenhum dos voluntários relatou qualquer reação adversa. A ANOVA 3 x 2 com medidas repetidas em ambos os fatores (condição vs. tempo) não indicou efeitos principais ou interações significativas para DILA, diâmetro basal e de diâmetro máximo da artéria braquial, nem força de cisalhamento. Nitrito plasmático e agregação plaquetária não diferiram entre as três condições de exercício nem pré-pós exercício. **Conclusão:** O exercício contrarresistência de membros inferiores realizado em baixa ou alta intensidade, com ou sem RFS não afeta a DILA, os níveis de nitrito, nem a agregação plaquetária. Os achados indicam que tais condições de exercício não parecem representar risco cardiovascular do ponto de vista hemostático em adultos saudáveis.

**Palavras-chave:** oxiemoglobina; desoxiemoglobina; força muscular; treinamento de força; hemodinâmica.

#### ABSTRACT

**Objective:** To compare endothelial function and platelet aggregation after resistance exercise performed with low-intensity blood flow restriction (LI-BFR) or free blood flow (LI-FreeBF) and high intensity with no blood flow restriction (HI-FreeBF) in healthy adults. **Methods:** Ten healthy men ( $23 \pm 3$  years) performed three experimental trials involving bilateral leg press and knee extension in a randomized crossover design: LI-BFR (3 x 15 reps at 30% 1 RM), LI-FreeBF (3 x 15 reps at 30% 1 RM), and HI-FreeBF (3 x 8 reps at 80% 1RM). BFR was maintained at 50% of the individual total occlusion pressure during the three sets, and it was released after the end of set 3. Brachial artery flow-mediated dilation (FMD) was measured with ultrasound with Doppler before and after exercise. Blood was collected to determine nitrite levels and platelet aggregation. **Results:** None of the volunteers reported any adverse reactions during the exercise protocols. A 3 x 2 ANOVA with repeated measures in both factors (condition vs. time) indicated no significant main effects or interactions for FMD, basal and peak brachial artery diameter, and shear rate. Plasma nitrite levels and platelet aggregation did not differ among the three exercise conditions nor pre-post resistance exercise. **Conclusion:** Our results indicate that lower limbs resistance exercise performed at low or high intensities and with or without BFR does not affect endothelial function, nitrite levels, and platelet aggregation. These findings indicate that such exercise conditions do not seem to represent cardiovascular risk from a hemostatic point of view in healthy adult men.

**Keywords:** oxyhemoglobin; deoxyhemoglobin; muscle strength; resistance exercise; hemodynamics.

Recebido em: 13 de novembro de 2021; Aceito em: 9 de fevereiro de 2022.

Correspondência: Paulo Sergio Chagas Gomes, Ph.D., Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Educação Física e Desportos, Rua São Francisco Xavier, 524 8o Andar, Bloco F, Sala 8104, Maracanã, 20550-900 Rio de Janeiro RJ. paulo.gomes@uerj.br

## Introdução

A disfunção endotelial é uma variável importante envolvida em morbidades cardiovasculares, como aterosclerose, hipertensão e doença arterial coronariana [1]. Tem sido demonstrado que o exercício contrarresistência (ECR) pode melhorar a função endotelial em adultos [2]. No entanto, apesar das adaptações favoráveis de longo prazo ao treinamento, uma única sessão de ECR pode piorar transitoriamente a função endotelial e aumentar a agregação plaquetária durante e logo após um indivíduo participar de uma sessão de exercício [3].

Quando associado à restrição do fluxo sanguíneo, o exercício resistido (RFS-ECR) tem sido reconhecido por seus efeitos favoráveis na força e hipertrofia [4]. No entanto, há poucas evidências disponíveis sobre seus efeitos na saúde vascular.

A dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (DILA) serve como um índice da função vasodilatadora dependente do endotélio mediada pelo óxido nítrico (NO) em humanos e é considerada um marcador substituto da função vascular/endotelial e doença cardiovascular [5].

Poucos estudos investigaram os efeitos do RFS-ECR de baixa intensidade na DILA. Evidências de estudos crônicos demonstraram melhorias [6], deficiências [7] e nenhuma diferença significativa na DILA após ECR realizada sob fluxo sanguíneo livre (FSLivre) ou RFS [8,9]. O único estudo que investigou os efeitos agudos do RFS-ECR na função endotelial [10] apontou para uma diminuição da DILA após uma única sessão de exercício de preensão manual sob RFS.

Um aumento agudo no estresse de cisalhamento (*shear rate*) sanguíneo e a diminuição inerente na saturação muscular de oxigênio causada pelo RFS-ECR podem afetar positivamente a saúde endotelial. O aumento da produção de NO e a ativação da transcrição do fator de crescimento endotelial vascular [11,12] estimula a angiogênese e melhora a função endotelial. No entanto, o exercício também pode desencadear fatores com impacto negativo, como o aumento da agregação plaquetária [13].

O estudo do equilíbrio entre as substâncias vasoativas que favorecem a função vascular e aquelas que podem prejudicá-la é de suma importância, pois uma sessão de exercício parece ser capaz de ativar ambas [10]. Dado o escasso corpo de evidências comparando protocolos RFS-ECR envolvendo os principais grupos musculares e protocolos do mundo real, o objetivo deste estudo foi comparar a função endotelial e a agregação plaquetária após RFS-ECR de baixa intensidade, exercício de baixa intensidade e FSLivre, e ECR de alta intensidade em adultos saudáveis.

## Métodos

### *Participantes*

Participaram deste estudo dez estudantes de educação física do sexo masculino saudáveis ( $23 \pm 3$  anos). Os sujeitos assinaram um termo de consentimento informado por escrito antes dos procedimentos experimentais. O estudo foi conduzido

com base nos padrões éticos da Resolução 510/16 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil, de acordo com as recomendações definidas na Declaração de Helsinque para pesquisa com seres humanos, assinada na 59ª Assembleia da Associação Médica Mundial em 2008. O Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade do Estado do Rio de Janeiro aprovou o protocolo do estudo (nº 3.125.780).

As variáveis morfológicas e de saúde dos participantes são apresentadas na Tabela I.

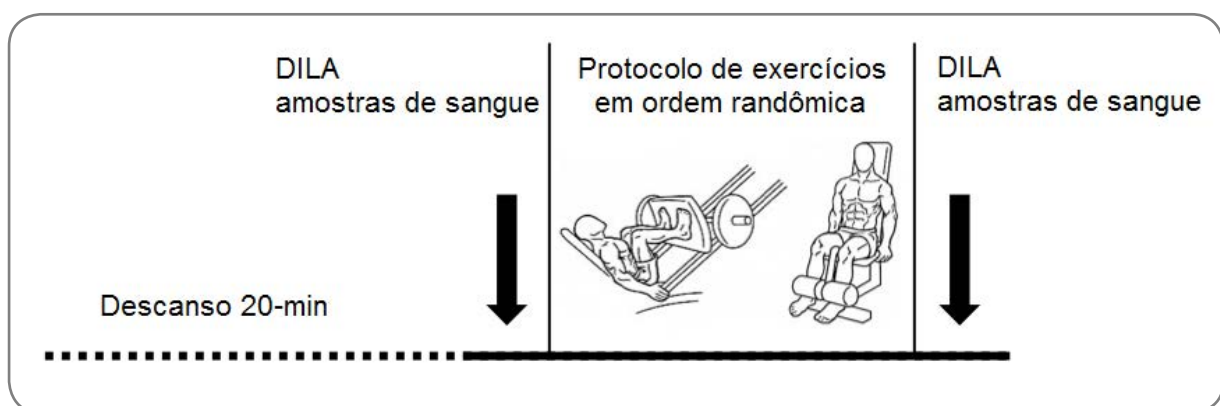
### *Protocolo de estudo*

O estudo foi realizado em um modelo de ensaio randomizado e controlado cruzado. Após as duas visitas iniciais, cada sujeito foi aleatoriamente designado para todas as três condições de tratamento por sorteio sem reposição de caso.

Os indivíduos compareceram ao laboratório em cinco ocasiões. A primeira visita foi usada para explicar os procedimentos experimentais, realizar medidas antropométricas e coletar dados na triagem pré-participação (*Physical Activity Readiness Questionnaire - Par-Q, Sheppard, 1988*). Na segunda visita, foram coletadas amostras de sangue para caracterização do perfil lipêmico dos participantes e registrados os testes de força dinâmica máxima (uma repetição máxima - 1RM) no *leg press* bilateral e extensão de joelho.

Na terceira, quarta e quinta sessões, os participantes foram submetidos à rotina de exercícios de extensão de joelho e *leg press* em três condições experimentais, em ordem aleatória, separada por três dias de período de wash-out: 1) baixa intensidade com fluxo sanguíneo restrito (BI-RFS); 2) baixa intensidade com fluxo livre de sangue (BI-FSLivre) e 3) alta intensidade com fluxo livre de sangue (AI-FSLivre). A dilatação fluxo mediada da artéria braquial (DILA) foi medida por ultrassom antes e após o exercício em cada condição experimental. Amostras de sangue foram coletadas para determinação dos valores de nitrito e agregação plaquetária.

As etapas dos procedimentos experimentais são mostradas na Figura 1.



DILA = dilatação fluxo mediada da artéria braquial

**Figura 1** - Desenho experimental

### *Determinação da pressão de oclusão arterial*

Um manguito de náilon de 17 cm x 68 cm de largura (*Tycos Welch Allyn DS44-11*) foi usado para identificar a pressão de oclusão da artéria (POA). Os participantes

foram solicitados a se deitarem em decúbito ventral, com o manguito aplicado na porção mais proximal da coxa esquerda. Em seguida, o transdutor linear de ultrassom de 40 mm (LOGIQe, GE Health Systems, Minas Gerais, Brasil) foi posicionado sobre a artéria poplítea em modo Doppler. O manguito foi inflado continuamente e lentamente até o pulso ficar silencioso. Após o silêncio, o fluxo foi liberado lentamente para detectar o início do pulso e inflado novamente até silenciar novamente, de modo a confirmar a detecção da POA. A POA média encontrada foi de  $152,0 \pm 8,0$  mmHg, e a pressão média aplicada em todas as condições de exercício com RFS foi de  $76,0 \pm 4,1$  mmHg.

#### *Testes de força dinâmica máxima*

O teste de 1RM foi realizado em equipamentos isotônicos de *leg press* e extensão de joelho. Os participantes aqueceram com uma carga estimada de 50% de 1RM, utilizando a seguinte equação:  $1RM = 100 \times \text{carga} / (102,78 - 2,78 \times \text{rep})$  (Nascimento *et al.*, 2007). A partir do valor previsto de 1 RM, os participantes realizaram de três a cinco tentativas de forma incremental, com intervalos de 5 min, até que fosse determinada a carga mais pesada que poderia ser executada com sucesso uma vez.

A carga média estimada de 1 RM foi de  $167,0 \pm 17,9$  kg para *leg press* e  $89,0 \pm 18,8$  kg para extensão de joelho.

#### *Exercício contrarresistência*

Todos os sujeitos foram submetidos a três condições experimentais de forma aleatória. As condições de baixa intensidade com restrição de fluxo sanguíneo (BI-RFS) e fluxo sanguíneo livre (BI-FSLivre) foi realizada a 30% de 1RM. A condição de alta intensidade com fluxo livre de sangue (AI-FSLivre) foi realizada a 80% de 1 RM nos exercícios de *leg press* e extensão de joelho.

Para o *leg press*, a carga média aplicada foi de  $50,1 \pm 5,4$  kg para BI-RFS e BI-FSLivre e  $133,6 \pm 14,3$  kg para AI-FSLivre. Para extensão do joelho, a carga média correspondente foi de  $26,7 \pm 5,7$  kg e  $71,2 \pm 15,1$  kg, respectivamente.

Nas condições BI-RFS e BI-FSLivre, os sujeitos realizaram três séries de 15 repetições. Na condição AI-FSLivre, os indivíduos realizaram três séries de oito repetições, sempre com intervalo de 1 minuto entre as séries em ambos os exercícios.

Durante as condições de RFS, um manguito de náilon de 17 cm x 68 cm de largura (Tycos Welch Allyn DS44-11) foi inflado e mantido a 50% da pressão de oclusão individual. A pressão do manguito foi liberada somente após a conclusão da terceira série.

#### *Hemodinâmica da artéria braquial*

A dilatação fluxo-mediada da artéria braquial (DILA) foi realizada com ultrassom no modo Doppler espectral colorido bidimensional equipado com transdutor linear de 14 MHz (Logic e, GE Health Systems, Brasil). As medidas foram obtidas antes e imediatamente após cada condição de exercício, com o sujeito deitado em decúbito dorsal. A sonda foi colocada na face anteromedial do braço direito perpen-

dicular à linha central do antebraço, 5-10 cm abaixo da fossa antecubital e sobre a artéria. O diâmetro basal e pós-oclusão foram medidos continuamente entre as interfaces íntima-lúmen-íntima. A oclusão foi mantida por 5 minutos com manguito de náilon de 17 cm x 68 cm (Tycos Welch Allyn DS44-11) no braço para aplicar pressão ligeiramente 50 mmHg acima da pressão arterial sistólica, o que foi confirmado pela falta de pulso no Tela Doppler. O procedimento foi registrado por uma duração total de 8 minutos: 1 minuto basal, 5 minutos de oclusão sanguínea e 2 minutos após a liberação do manguito.

O mesmo investigador realizou todos os testes. A DILA foi calculada como a alteração percentual no diâmetro da artéria após a liberação do fluxo (diâmetro de pico) em relação ao diâmetro basal.

Foram calculados o diâmetro da artéria braquial e o *shear rate* (taxa de cisalhamento: 4 vezes a velocidade do sangue dividida pelo diâmetro): o diâmetro basal e o *shear rate* corresponderam à média dos registros obtidos a cada segundo durante o primeiro minuto anterior à liberação do manguito. O diâmetro do pico e o *shear rate* do pico foram detectados automaticamente como os valores mais altos obtidos durante os dois minutos finais de registro após a liberação do manguito. Análises off-line de diâmetros e *shear rate* foram realizadas usando software automatizado de detecção de bordas (Cardiovascular Suite, Quipu, Pisa, Itália).

Dados prévios inéditos de nosso laboratório mostraram uma alta confiabilidade teste-teste das medidas de DILA, com coeficientes de correlação intraclasse de  $R=0,83$  e  $R=0,78$  para medidas intradia e interdia, respectivamente. O erro de medida típico absoluto foi de 0,8% e 1,38%.

#### *Amostras de sangue*

Uma enfermeira treinada realizou todas as coletas de sangue neste estudo. As análises bioquímicas foram realizadas de forma cega por um investigador não familiarizado com os procedimentos de teste.

No início do estudo, amostras de sangue (5 mL) foram obtidas por punção venosa após jejum de 12 horas. Os níveis de colesterol total em jejum, colesterol de lipoproteína de alta densidade, colesterol de lipoproteína de baixa densidade e triglicérides foram determinados por meio enzimático com um sistema Roche/Hitachi 917 (AF. Hoffmann-La Roche AG, Basel, Suíça) e kits padrão.

A produção de óxido nítrico e a agregação plaquetária foram avaliadas antes do procedimento de DILA basal e imediatamente após a DILA ser realizada pós-exercício. Uma amostra de 5 mL de sangue foi coletada da veia ante cubital usando uma agulha estéril. Para nitrito, as amostras de sangue foram centrifugadas a 4.000 rpm por 5 min para separar o plasma que foi armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Os níveis de proteína foram quantificados por ensaio de ácido bicinconínico (kit BCA, BioAgency, Brasil), e a absorbância foi lida em 562 nm (TP-Reader, Thermoplate, Brasil). O ensaio de Griess avaliou os níveis de nitrito. As amostras foram misturadas com um volume igual (1:1) de reagente de Griess (0,1% de dicloridrato de n-(1-naftil)etileno-diamina, 1% de sul-

fanilamida e 2,5% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). A absorvância foi medida a 540 nm usando um leitor de microplacas de 96 poços (TP-Reader, Thermoplate, Thermo Fisher, Waltham, MA, EUA).

A análise de agregação plaquetária foi realizada em até 2 horas após a coleta de sangue. Primeiramente, o plasma rico em plaquetas foi obtido por centrifugação a 200 g por 15 min. Posteriormente, o plasma pobre em plaquetas foi obtido por centrifugação a 900 g por 10 minutos, segundo o método de Yun-Choi *et al.* (2000). A contagem de plaquetas foi ajustada para 150.000 células/ $\mu$ L com plasma pobre em plaquetas. A agregação plaquetária foi quantificada de acordo com a técnica de Born (1962) em um agregômetro óptico (Aggro/Link® Modelo 810-CA. Chrono-Log, EUA) à temperatura de 37°C, utilizando ADP como agonista (ADP em concentrações de 5,0  $\mu$ M).

### *Análise estatística*

Todos os dados são expressos como média e desvio padrão. O teste de normalidade de Shapiro-Wilk para amostras pequenas foi utilizado para verificar a normalidade da distribuição dos dados. Uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas em dois fatores (3 x 2, condição vs. tempo) foi usada para identificar diferenças na DILA e variáveis sanguíneas entre as condições BI-FSLivre, BI-RFS e AI-FSLivre. O teste post-hoc de Bonferroni foi usado para detectar diferenças específicas a cada efeito principal significativo encontrado. Todas as análises foram realizadas usando um software comercial (IBM SPSS Statistics for Windows, Versão 21.0. Armonk, NY: IBM Corp). O nível de significância estatística foi estabelecido em um valor de  $P < 0,05$ .

O poder do teste foi determinado com base no teste E, usando uma ANOVA com medidas repetidas e interação entre fatores. A análise post-hoc identificou o poder do estudo em 0,74. Para este resultado, foi considerado um tamanho de efeito de 0,40, um erro  $\alpha$ : 0,05, para um tamanho de amostra de 9 participantes (houve uma perda amostral para agregação plaquetária e outra perda amostral para nitrito), em três condições (BI-FSLivre, BI-RFS e AI-FSLivre), duas medidas repetidas ao longo do tempo (pré vs pós-tratamento), uma correlação entre medidas repetidas de 0,8 e correção de não esfericidade de 1.

## **Resultados**

### *Características dos participantes*

Nenhum dos voluntários relatou quaisquer reações adversas durante os protocolos de exercício. Todos os participantes responderam negativamente ao questionário PAR-Q.

Todas as variáveis testadas apresentaram distribuição normal.

**Table I** - Características dos participantes

Variáveis	Média ( $\pm$ desvio padrão)
Idade (anos)	23 ( $\pm$ 3)
Massa corporal (kg)	77,4 ( $\pm$ 13,1)
Estatura (cm)	176,4 ( $\pm$ 5,2)
Gordura corporal (%)	9,2 ( $\pm$ 4,4)
Pressão arterial sistólica (mmHg)	118,1 ( $\pm$ 4,6)
Pressão arterial diastólica (mmHg)	82,2 ( $\pm$ 6,0)
Frequência cardíaca (bpm)	82,7 ( $\pm$ 4,3)
Colesterol total (mg/dL)	140,7 ( $\pm$ 13,6)
Lipoproteína de alta densidade (mg/dL)	50,5 ( $\pm$ 9,9)
Lipoproteína de baixa densidade (mg/dL)	56,8 ( $\pm$ 15,8)
Triglicerídeos (mg/dL)	140,7 ( $\pm$ 13,6)

### *Hemodinâmica da artéria braquial*

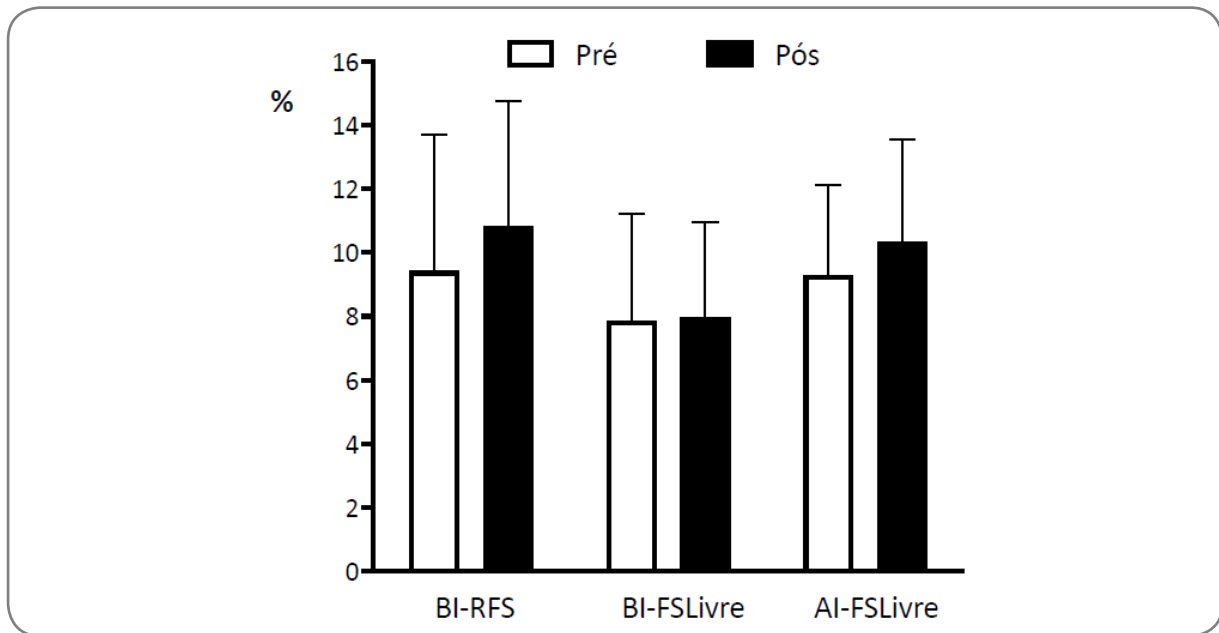
Dados ultrassonográficos de qualidade suficiente não foram coletados para três participantes, e seus dados foram excluídos da análise hemodinâmica final.

Os resultados da ANOVA 3 x 2 para diâmetro basal e de diâmetro de pico da artéria braquial, *shear rate* basal e *shear rate* de pico (Tabela II) medidos antes e após os três protocolos de exercício indicaram que não houve efeitos principais significativos ou interações condição versus tempo. Não foram encontradas diferenças significativas para efeitos principais ou interação condição versus tempo para DILA (Figura 2).

**Table II** - Respostas hemodinâmicas da artéria braquial às três condições experimentais de exercício contrarresistência

Variável	BI-RFS	BI-FSLivre	AI-FSLivre
<b>Diâmetro basal (mm)</b>			
Pré	4,1 ( $\pm$ 0,5)	4,2 ( $\pm$ 0,5)	4,0 ( $\pm$ 0,5)
Pós	4,1 ( $\pm$ 0,5)	4,2 ( $\pm$ 0,5)	4,2 ( $\pm$ 0,6)
<b>Diâmetro de pico (mm)</b>			
Pré	4,5 ( $\pm$ 0,5)	4,5 ( $\pm$ 0,5)	4,4 ( $\pm$ 0,6)
Pós	4,6 ( $\pm$ 0,4)	4,5 ( $\pm$ 0,5)	4,6 ( $\pm$ 0,7)
<b>Shear rate basal (s<sup>-1</sup>)</b>			
Pré	97,1 ( $\pm$ 59,2)	134,4 ( $\pm$ 100,2)	103,4 ( $\pm$ 32,4)
Pós	127,0 ( $\pm$ 79,1)	118,7 ( $\pm$ 58,7)	121,6 ( $\pm$ 61,5)
<b>Shear rate pico (s<sup>-1</sup>)</b>			
Pre	495,4 ( $\pm$ 164,6)	564,7 ( $\pm$ 67,5)	474,9 ( $\pm$ 104,5)
Post	589,4 ( $\pm$ 148,4)	597,6 ( $\pm$ 91,4)	492,2 ( $\pm$ 137,5)

Dados relatados como média  $\pm$  DP para sete participantes; BI-RFS = exercício contrarresistência de baixa intensidade com restrição de fluxo sanguíneo; BI-FSLivre = exercício contrarresistência de baixa intensidade com fluxo sanguíneo livre; AI-FSLivre = exercício contrarresistência de alta intensidade com fluxo sanguíneo livre

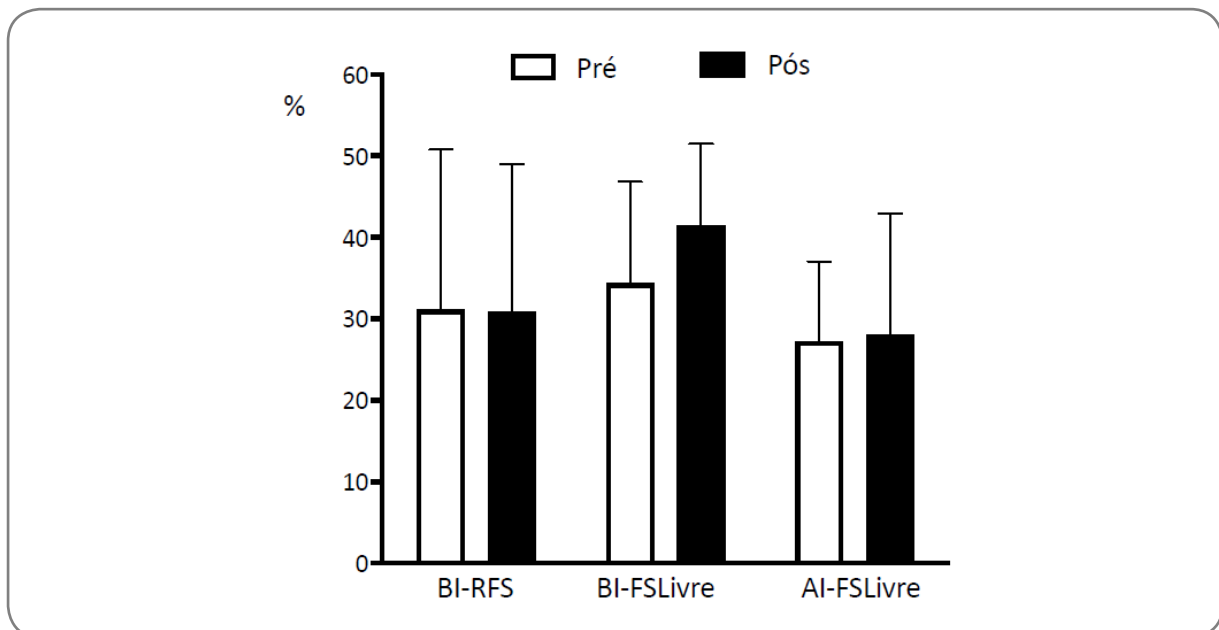


BI-RFS = baixa intensidade com restrição de fluxo sanguíneo; BI-FSLivre = baixa intensidade com fluxo sanguíneo livre; AI-FSLivre = alta intensidade com fluxo sanguíneo livre; média e desvio padrão; Nenhuma diferença foi estatisticamente significativa para  $P < 0,05$

**Figura 2** - Dilatação fluxo mediada da artéria braquial medida nos tempos pré e pós-exercício sob diferentes condições experimentais

### Agregação plaquetária

Os resultados da ANOVA 3 x 2 não mostraram diferenças estatísticas na agregação plaquetária em qualquer das três condições de exercício nos tempos pré-pós exercício contrarresistência, nem nas interações condição x tempo (Figura 3).



BI-RFS = baixa intensidade com restrição de fluxo; BI-FSLivre = baixa intensidade com fluxo sanguíneo livre; AI-FSLivre = alta intensidade com fluxo sanguíneo livre; média e desvio padrão. Nenhuma diferença foi estatisticamente significativa para  $P < 0,05$

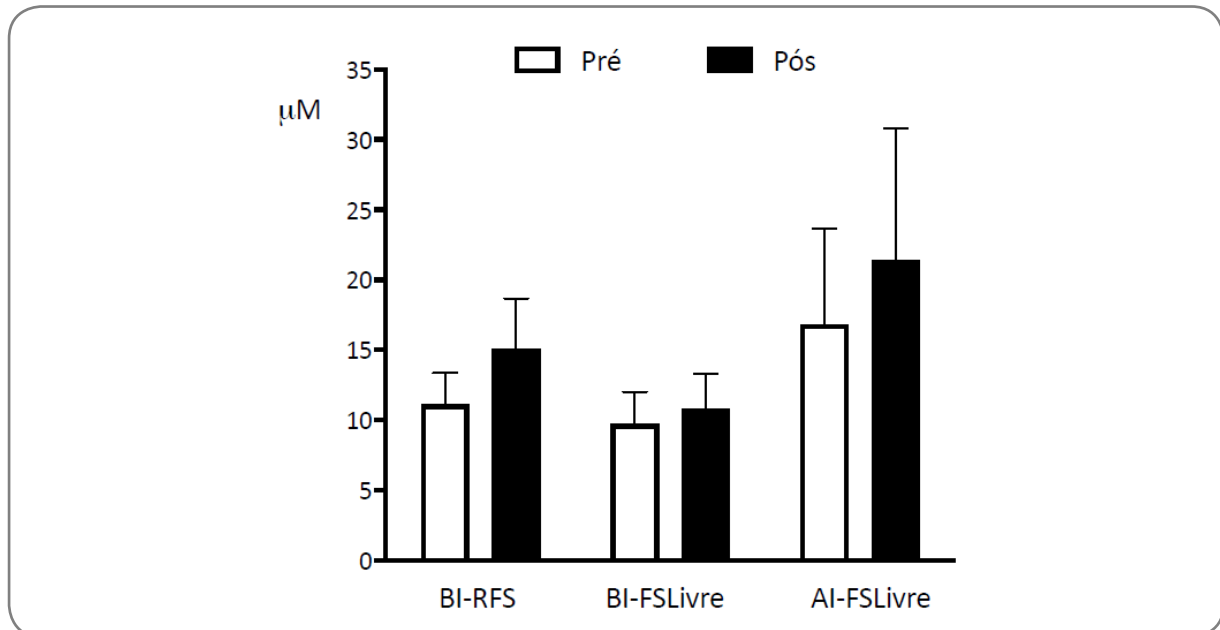
**Figura 3** - Agregação plaquetária medida nos tempos pré e pós-exercício sob diferentes condições experimentais



### Nitrito

Não foram observados efeitos principais significativos ou interações condição x tempo para os níveis de nitrito. A Figura 4 mostra os níveis de nitrito antes e depois das sessões de exercício.

O incremento médio entre pré e pós-exercício foi de  $4,0 \pm 1,9$   $4,0 \pm 1,9$   $\mu\text{M}$  para BI-RFS,  $1,1 \pm 0,6$   $\mu\text{M}$  para BI-FSLivre e  $4,6 \pm 5,1$   $\mu\text{M}$  para AI-FSLivre.



BI-BFR = baixa intensidade com restrição de fluxo sanguíneo; BI-FSLivre = baixa intensidade com fluxo sanguíneo livre; AI-FSLivre = alta intensidade com fluxo sanguíneo livre; média e desvio padrão; Nenhuma diferença foi estatisticamente significativa para  $P < 0,05$

**Figura 4** - Níveis de nitrito sanguíneo medidos nos tempos pré e pós-exercício sob diferentes condições experimentais

### Discussão

O presente estudo foi realizado para identificar os efeitos agudos de diferentes condições de exercício contrarresistência com e sem restrição do fluxo sanguíneo sobre a função endotelial, concentrações de nitrito no sangue e agregação plaquetária. Até onde sabemos, é o primeiro estudo a investigar os efeitos agudos de diferentes RFS-ECR envolvendo os principais grupos musculares sobre a função endotelial, concentrações de nitrito no sangue e agregação plaquetária. O principal achado foi que exercícios bilaterais de membros inferiores realizados sob restrição de fluxo sanguíneo não ameaçaram a função vascular em homens saudáveis.

Os participantes deste estudo apresentam características físicas e metabólicas homogêneas, pois os perfis antropométricos e lipêmicos estavam dentro dos níveis recomendados para adultos [15,16]. Além disso, nenhum deles relatou qualquer desconforto durante ou após o exercício nas três condições experimentais.

Analisando os valores de pico do *shear rate* em uma inspeção visual, foi possível observar um aumento maior entre as sessões pré e pós-exercício nas condições BI-RFS ( $75,22 \pm 203,33$   $\text{s}^{-1}$ ) e AI-FSLivre ( $60,63 \pm 62,24$   $\text{s}^{-1}$ ), em comparação com os

valores de BI-FSLivre ( $19,78 \pm 54,92$  s<sup>-1</sup>). Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas, os valores numéricos dos maiores incrementos encontrados nas condições BI-RFS e AI-FSLivre denotam o alto esforço físico, definido pela dificuldade dos participantes em completar as séries e repetições propostas nestas condições, o que pode ter influenciado os aumentos mais significativos no pico do *shear rate* nessas condições [17]. Assim como o pico do *shear rate*, os valores basais também sofreram maiores modificações numéricas nas condições BI-RFS e AI-FSLivre do que em BI-FSLivre. No entanto, essas mudanças também não foram estatisticamente significativas.

Tinken *et al.* [18] demonstraram que quando o exercício aumenta o SR, espera-se um aumento da DILA em resposta, pois quanto maior o SR, maior a ação mecânica do fluxo sanguíneo sobre as células endoteliais, promovendo a liberação de substâncias vasoativas que promovem a vasodilatação. No entanto, não foi observado aumento agudo significativo da DILA no presente estudo após as três condições de exercício. Provavelmente a falha na identificação de mudanças significativas foi influenciada pela grande variabilidade dos dados.

Controversamente, Paiva *et al.* [10] estudaram os efeitos dos valores de DILA 15 min após uma única sessão de exercício de preensão manual dinâmica bilateral (20 min com 60% da contração voluntária máxima, 15 contrações por minuto) e relataram que a adição de RFS ao protocolo embotou o aumento DILA observada após o mesmo exercício sem RFS. Os autores atribuíram os achados à maior SR oscilatória e à produção de espécies reativas de oxigênio causadas pela RFS no braço exercitado sob restrição.

No entanto, o presente estudo não avaliou padrões de *shear rate* ou espécies reativas de oxigênio, prejudicando a interpretação dos dados. Portanto, nossos achados se limitam à observação de que diferentes intensidades de exercício resistido com ou sem RFS produzem efeitos imediatos semelhantes na função endotelial.

Períodos agudos de SR retrógrado aumentado foram observados para prejudicar a função endotelial [19]. Os padrões de *shear rate* em membros não exercitados podem variar de acordo com as diferentes modalidades de exercício de membros inferiores [20]. Com relação aos efeitos do exercício contrarresistência, Thomas *et al.* relataram que três séries de 10 RM de extensão do joelho causaram apenas um aumento trivial e de curta duração no *shear rate* anterógrado e nenhuma mudança significativa no fluxo retrógrado imediatamente após o exercício [21]. Pouco se sabe sobre o ECR-RFS, mas é possível especular que os protocolos de exercícios testados no presente estudo não deveriam ter aumentado notavelmente o SR retrógrado e, portanto, não deveriam ter efeitos deletérios na DILA.

Com relação à agregação plaquetária, nenhum efeito deletério foi provocado pela aplicação de RFS ao exercício resistido. Sabe-se que parte da disfunção endotelial está relacionada à adesão plaquetária, pois as plaquetas são ativadas quando há lesão no endotélio [22]. Embora o treinamento físico crônico desempenhe um papel importante na prevenção de manifestações de doenças cardiovasculares, incluindo

aterosclerose [23], uma sessão de exercício extenuante agudo aumenta a ativação e agregação plaquetária, promovendo processos inflamatórios [24]. Uma explicação para a atenuação do aumento inerente da agregação plaquetária observada no presente estudo pode ser atribuída ao estado de treinamento dos participantes, todos treinados com exercícios contrarresistência. De acordo com Creighton *et al.* [25], após uma sessão aguda de exercício contrarresistência pesado, os marcadores de ativação plaquetária parecem ser mais baixos em indivíduos treinados com resistência.

Como dito anteriormente, os níveis plasmáticos de nitrito, um indicador adequado e confiável da produção sistêmica de NO [26], não apresentaram alterações estatisticamente significativas em resposta aos protocolos de exercício aplicados. Esses achados estão de acordo com Boeno *et al.* [27], que desenvolveram um estudo muito semelhante ao presente. Eles compararam o efeito dos exercícios de resistência AI-RFS, BI-FSLivre e AI-FSLivre (membros superiores e inferiores) nos níveis de subprodutos de óxido nítrico e atividade de enzimas antioxidantes em homens jovens saudáveis. Eles demonstraram que uma sessão de exercício resistido BI-RFS não foi capaz de modular os níveis plasmáticos de NOx. No entanto, quando comparados com os níveis na condição AI-FSLivre, esses níveis foram significativamente maiores após o exercício.

É importante ressaltar que o NO possui propriedades ante-aterogênicas e exerce ações inibitórias para adesão, ativação e agregação plaquetária [28]. Do ponto de vista hemostático, a não elevação da agregação plaquetária associada à manutenção dos níveis de nitrito pode demonstrar que esse método pode ser seguro de ser praticado, pois não aumenta o risco de formação de trombos vasculares.

É importante notar que utilizamos um protocolo de exercícios envolvendo apenas membros inferiores no presente estudo. No entanto, estudos anteriores indicaram que as respostas vasculares ao exercício também podem ser evidentes em artérias que não alimentam diretamente o músculo esquelético ativo, com alterações evidentes na DILA da artéria braquial após exercícios de membros inferiores [29].

Reconhecem-se algumas limitações na interpretação dos resultados do presente estudo. As respostas hemodinâmicas foram examinadas apenas imediatamente após a sessão de exercício, e a observação no decorrer do tempo das respostas seria mais apropriada. Não se avaliou o padrão de *shear rate* e a produção de espécies reativas de oxigênio, que são fatores essenciais que influenciam as respostas vasculares. Mais estudos são necessários para elucidar o papel dessas variáveis na função endotelial e agregação plaquetária.

## Conclusão

Em resumo, nossos resultados indicam que o exercício contrarresistência de membros inferiores em baixa ou alta intensidade e com ou sem restrição de fluxo sanguíneo como utilizado no presente estudo não pode afetar significativamente as respostas induzidas na função endotelial, níveis de nitrito e agregação plaquetária.

Esses achados indicam que tais condições de exercício não parecem representar risco cardiovascular do ponto de vista hemostático, pelo menos para homens adultos saudáveis.

#### Potencial conflito de interesse

Nenhum conflito de interesses com potencial relevante para este artigo foi reportado.

#### Fontes de financiamento

Gomes OS: Bolsa de Produtividade em Pesquisa (PQ2) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil - CNPq; Bolsa PROCIÊNCIA da Universidade Estadual do Rio de Janeiro.

#### Contribuição dos autores

**Concepção do estudo:** Gomes PSC, Meirelles CM, Fernandes Junior ML; **Desenho do estudo:** Meirelles CM, Gomes PSC, Fernandes Junior ML; **Coleta de dados:** Fernandes Junior ML; **Análise bioquímica:** Matsuura C; **Redação do documento:** Meirelles CM, Gomes PSC, Fernandes Junior ML, Matsuura C; **Redação da versão em inglês do manuscrito:** Gomes PSC; **Revisão final do manuscrito:** Meirelles CM, Gomes PSC.

## Referências

1. Corban MT, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction cardiovascular disease pathophysiology hidden in plain sight. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2019;39:1272-4. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.312836
2. Zhang Y, Zhang Y, Zhang H, Ye W, Korivi M. Low-to-moderate-intensity resistance exercise is more effective than high-intensity at improving endothelial function in adults: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18:6723. doi: 10.3390/ijerph18136723
3. Haynes A, Linden MD, Robey E, Watts GF, Barrett PH, Naylor LH, Green DJ. Acute impact of different exercise modalities on arterial and platelet function. *Med Sci Sports Exerc* 2018;50(4):785-91. doi: 10.1249/MSS.0000000000001505
4. Scott BR, Loenneke JP, Slattery KM, Dascombe BJ. Exercise with blood flow restriction: an updated evidence-based approach for enhanced muscular development. *Sports Med* 2015;45:313-25. doi: 10.1007/s40279-014-0288-1
5. Green DJ, Dawson EA, Jones H, Thijssen DH. Is flow-mediated dilation nitric oxide mediated? A meta-analysis. *Hypertension* 2014;63:376-82. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02044
6. Early KS, Rockhill M, Bryan A, Tyo B, Buuck D, McGinty J. Effect of blood flow restriction training on muscular performance, pain and vascular function. *Int J Sports Phys Ther* 2020;15(6):892-900. doi: 10.26603/ijsp20200892
7. Credeur DP, Hollis BC, Welsch MA. Effects of handgrip training with venous restriction on brachial artery vasodilation. *Med Sci Sports Exerc* 2010;42(7):1296-302. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181ca7b06
8. Ramis TR, De Muller LCH, Boeno FP, Teixeira BC, Rech A, Pompermayer MG, et al. Effects of traditional and vascular restricted strength training program with equalized volume on isometric and dynamic strength, muscle thickness, electromyographic activity, and endothelial function adaptations in young adults. *J Strength Cond Res* 2020;34(3):689-98 doi: 10.1519/JSC.0000000000002717
9. Hunt JEA, Walton LA, Ferguson RA. 2012. Brachial artery modifications to blood flow-restricted handgrip training and detraining. *J Applied Physiol* 112(6):956-61. doi: 10.1152/jappphysiol.00905.2011
10. Paiva FM, Vianna LC, Fernandes IA, Nobrega AC, Lima RM. 2016. Effects of disturbed blood flow during exercise on endothelial function: a time course analysis. *Braz J Med Biol Res* 2016;49(4):49. doi: 10.1590/1414-431X20155100
11. Ferguson RA, Hunt JE, Lewis MP, Martin NR, Player DJ, Stangier C, et al. The acute angiogenic signaling response to low load resistance exercise with blood flow restriction. *Eur J Sport Sci* 2018;18(3):397-406. doi: 10.1080/17461391.2017.1422281
12. Nascimento DC, Schoenfeld BJ, Prestes J. Potential implications of blood flow restriction exercise on vascular health: a brief review. *Sports Med* 2020;50(1):73-81. doi: 10.1007/s40279-019-01196-5

13. Ahmadizad S, El-Sayed MS, MacLaren DP. Responses of platelet activation and function to a single bout of resistance exercise and recovery. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006;35(1-2):159-68. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16899922/>
14. Shephard RJ. PAR-Q, Canadian Home Fitness Test and exercise screening alternatives. *Sports Med* 1988;5(3):185-95. doi: 10.2165/00007256-198805030-00005
15. Haun DR, Pitanga FJ, Lessa I. Razão cintura/estatura comparado a outros indicadores antropométricos de obesidade como preditor de risco coronariano elevado. *Rev Assoc Med Bras* 2009;55(6):705-11. doi: 10.1590/s0104-42302009000600015
16. Xavier HT, Izar MC, Neto JR, Assaad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al. Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 2013;101(4):1. doi: 10.5935/abc.20170121
17. Morishima T, Tsuchiya Y, Iemitsu M, Ochi E. High-intensity resistance exercise with low repetitions maintains endothelial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2018;315:H681-6. doi: 10.1152/ajpheart.00281.2018
18. Tinken TM, Thijssen DH, Hopkins N, Black MA, Dawson EA, Minson CT, et al. Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. *Hypertension* 2009;54(2):278-85. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.134361
19. Thijssen DHJ, Dawson EA, Tinken TM, Cable NT, Green DJ. Retrograde flow and shear rate acutely impair endothelial function in humans. *Hypertension* 2009;53(6):986-92(a). doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.131508
20. Thijssen DHJ, Dawson EA, Black MA, Hopman MTE, Cable NT, Green DJ. Brachial artery blood flow responses to different modalities of lower limb exercise. *Med Sci Sports Exer* 2009;41(5):1072-9(b). doi: 10.1249/MSS.0b013e3181923957
21. Thomas KN, Kissling LS, Gibbons TD, Akerman AP, van Rij AM, Cotter JD. The acute effect of resistance exercise on limb blood flow. *Exp Physiol* 2020;105(12):2099-109. doi: 10.1113/EP088743
22. Stassen JM, Arnout J, Deckmyn H. The hemostatic system. *Curr Med Chem* 2004;11(17): 2245-60. doi: 10.2174/0929867043364603
23. Green DJ, O'Driscoll G, Joyner MJ, Cable NT. Exercise and cardiovascular risk reduction: time to update the rationale for exercise? *J Appl Physiol* 2008;105(2):766-78. doi: 10.1152/jappphysiol.01028.2007
24. Ahmadizad S, El-Sayed MS. The effects of graded resistance exercise on platelet aggregation and activation. *Med Sci Sports Exer* 2003;35(6):1026-32. doi: 10.1249/01.MSS.0000069406.54766.C6
25. Creighton BC, Kupchak BP, Aristizabal JC, Flanagan SD, Dunn-Lewis C, Volk BM, et al. Influence of training on markers of platelet activation in response to a bout of heavy resistance exercise. *Eur J Appl Physiol* 2013;113:2203-9. doi: 10.1007/s00421-013-2645-4
26. Tsikas D. Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids. *Free Radic Res* 2005;39(8):797-815. doi: 10.1080/10715760500053651
27. Boeno FP, Ramis TR, Farinha JB, Lemos LS, Medeiros NS, Ribeiro JL. Acute effects of strength exercise with blood flow restriction on vascular function of young healthy males. *J Vasc Bras* 2018;17(2):122-7. doi: 10.1590/1677-5449.011017
28. Vanni DS, Horstmann B, Benjo AM, Daher JP, Kanaan S, Sleiman M. Óxido nítrico: inibição das plaquetas e participação na formação do trombo. *J Bras Patol Med Lab* 2007;43(3):181-9. doi: 10.1590/S1676-24442007000300007
29. Zhang Y, Zhang Y-J, Zhang H, Ye WB, Korivi M. Low-to-moderate-intensity resistance exercise is more effective than high-intensity at improving endothelial function in adults: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18:6723. doi: 10.3390/ijerph18136723

