



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro de Educação e Humanidades

Instituto de Educação Física e Desportos

Gustavo Gonçalves Cardozo

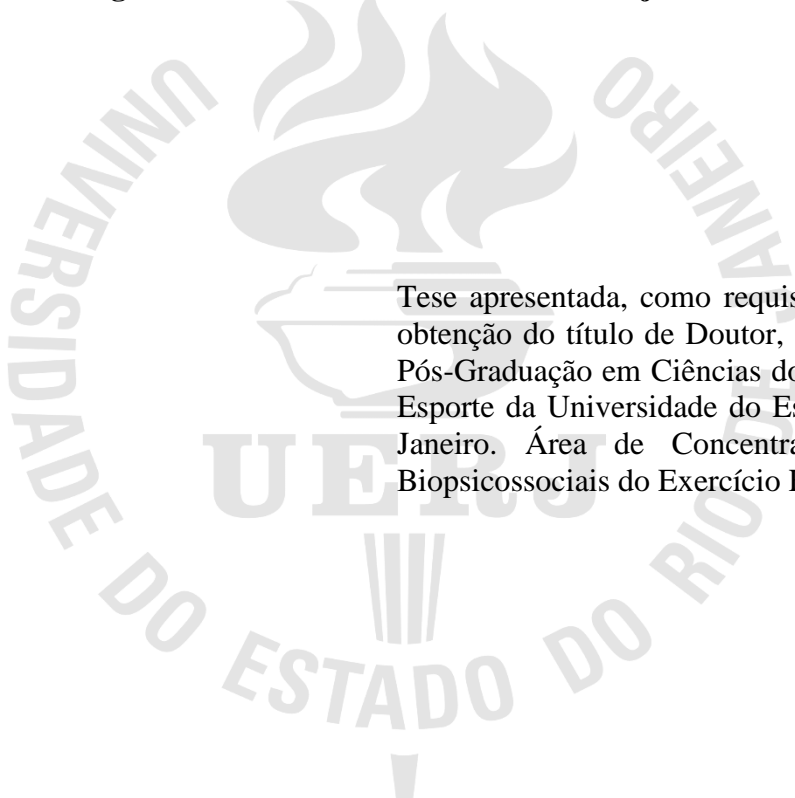
**Efeitos agudos do exercício físico realizado com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo sobre a reatividade vascular de jovens**

Rio de Janeiro

2023

Gustavo Gonçalves Cardozo

**Efeitos agudos do exercício físico realizado com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo sobre a reatividade vascular de jovens**



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Exercício e do Esporte da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Aspectos Biopsicossociais do Exercício Físico.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Brandão de Oliveira

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Karynne Grutter Lisboa Lopes dos Santos

Rio de Janeiro

2023

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CEH/B

C268 Cardozo, Gustavo Gonçalves.  
Efeitos agudos do exercício físico realizado com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo sobre a reatividade vascular de jovens / Gustavo Gonçalves Cardozo. – 2023.  
120 f.: il.

Orientador: Ricardo Brandão de Oliveira  
Coorientadora: Karyne Grutter Lisboa Lopes dos Santos .  
Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Educação Física e Desportos.

1. Exercícios físicos para jovens – Teses. 2. Treinamento de força – Teses. 3. Circulação sanguínea – Teses. 4. Sistema cardiovascular – Teses. I. Oliveira, Ricardo Brandão de II. Santos, Karyne Grutter Lisboa Lopes dos. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Educação Física e Desportos. IV. Título.

CDU 613.72-053.6:612.3

Bibliotecária: Mirna Lindenbaum CRB7 4916

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Gustavo Gonçalves Cardozo

**Efeitos agudos do exercício físico realizado com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo sobre a reatividade vascular de jovens**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Exercício e do Esporte da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Aspectos Biopsicossociais do Exercício Físico.

Aprovada em 08 de fevereiro de 2023

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Ricardo Brandão de Oliveira (Orientador)

Instituto de Educação Física e Desportos - UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dra Karynne Grutter Lisboa Lopes dos Santos (Coorientadora)

Instituto de Educação Física e Desportos - UERJ

---

Prof. Dr. Elirez Bezerra da Silva

Instituto de Educação Física e Desportos - UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Juliana Pereira Borges

Instituto de Educação Física e Desportos - UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Daisy Motta Santos

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

---

Prof. Dr. Marcelo Santos Rodrigues

Instituto Albert Einstein

Rio de Janeiro

2023

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho à minha falecida, porém sempre presente, avó Magdalena Cardozo (eterna motivadora e torcedora pelo meu sucesso), à minha amada esposa Andréa Cardozo (incentivadora e companheira em todos os momentos) e ao meu amor incondicional Julia Cardozo (minha incrível filha – com certeza o meu maior combustível para tudo), pois sem elas eu não teria base educacional e motivacional para tal construção.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me dado saúde e a oportunidade de concluir mais esse ciclo em minha vida.

Agradeço à minha falecida avó Magdalena por ter me dado toda base educacional e humana. Uma pessoa que nunca negou carinho e conselhos em diversos ciclos da minha vida. Sinto muita saudade e, com certeza, esse título também é seu.

Agradeço à minha amada esposa Andréa por ter entendido e me ajudado nessa trajetória cheia de obstáculos entre estudar, trabalhar e dar atenção às pessoas próximas, especialmente à Julia (nossa incrível e apaixonante filha que com certeza é o nosso maior combustível para tudo).

Agradeço a toda minha família que me ajudou, como os meus amados irmãos Eduardo, Renata e Watson, minha mãe, meu pai, meu falecido avô Manoel Cardozo, meus tios e tias, meus primos – especialmente ao Fábio Modesto (falecido em 2016, mas o maior incentivador profissional), meus sobrinhos e afilhada. Agradeço à família que entrou em minha vida de forma definitiva como a minha sogra Juséia e meu sogro Roberto, seu Julio (ausente em vida desde 2016) e dona Nyséa (falecida no último ano) e Tita. Esses ajudaram e ajudam demais!

Ao Professor Ricardo Brandão, esse merece o meu eterno respeito. Aceitou-me como orientando de Doutorado e acreditou em mim, apesar de todas as minhas ocupações extras. Enfatizou outro caminho no âmbito acadêmico, mas nunca deixou de ser profissional e brilhante em suas orientações. Aprendi e aprendo demais com a sua vasta experiência dentro e fora do mundo acadêmico. “Trocamos figurinhas” desde o meu período de Mestrado (período em que foi meu co-orientador) – Boa parte da minha vida foi conversando ou trocando informações com ele. De coração, obrigado por tudo que você fez por mim nesses períodos de Mestrado e Doutorado. Você me deu uma oportunidade e serei grato eternamente por isso tudo.

Agradeço à amiga Karynne Grutter pela sua co-orientação nesse trabalho de uma forma altamente qualificada e atenciosa. Ela merece toda minha gratidão por ter feito um esforço muito acima da média para tudo. A sua presença em todos os meus passos nesse período e a sua cooperação foram incríveis. Obrigado por tudo, principalmente pela sua amizade e carinho.

Agradeço à Elisa (secretária do BIOVASC-UERJ) pelo profissionalismo, carinho e por todo esforço para me ajudar no recrutamento e na logística com os voluntários. Agradeço às técnicas de enfermagem Cida, Márcia e Karina por terem sido fantásticas em tudo. Agradeço ao Professor Daniel Botinno por ter me ensinado técnicas para minha pesquisa e ter contribuído para o meu crescimento científico. Agradeço à Maria das Graças pela colaboração nos estudos e pelas conversas produtivas. Agradeço ao Matheus Ramos que me ajudou incansavelmente na elaboração dos protocolos, em seu período como bolsista de iniciação científica.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Exercício e do Esporte da UERJ: alunos que me ajudaram diretamente e indiretamente na discussão do meu trabalho e ao corpo docente que contribuiu no aumento da minha base em pesquisa. Agradeço à CAPES e FAPERJ por financiamentos diretos e indiretos para o estudo e ao LABSAU-UERJ BIOVASC-UERJ por toda estrutura de trabalho oferecida.

Agradeço aos meus eternos orientadores e motivadores pessoais e profissionais: Michael Willian Ward, por toda motivação profissional e bases salesianas transmitidas em suas sessões de Atletismo no Colégio Salesiano Santa Rosa; ao falecido professor PERON (meu técnico de atletismo na Mangueira e de seleções) – esse me ensinou a correr (LITERALMENTE) incansavelmente atrás das coisas – saudades suas, grande mestre; Marcos Santos, por ser meu espelho profissional na Educação Física e ter aumentado a minha base acadêmica na época de monitoria em Atletismo e Orientação de Monografia no Instituto de Educação Física e Desportos da Uerj; Wallace Monteiro, por ter me orientado na época de monitoria em Treinamento de Força no Instituto de Educação Física e Desportos da Uerj, ter me encaminhado ao estudo e à prática do treinamento de populações com distúrbios cardiometabólicos na Clínica de Fisiopatologia Experimental da Uerj, ao professor Paulo de Tarso Veras Farinatti pelos ensinamentos desde o tempo de graduação (2001); por ter me levado a trabalhar com reabilitação cardíaca sob sua supervisão (2006); por ter me motivado a preparar e me engajar em um estudo de intervenção no âmbito do Mestrado (2010); por compartilhar suas experiências de vida e de Educação Física em suas conversas e conselhos sempre muito proveitosos; por ter entendido e confiado em todo meu esforço para sempre continuar trabalhando e estudando ao mesmo tempo e, por fim, ter me orientado no curso de Mestrado (concluído em 2013). Muito obrigado!

Agradeço à banca da minha defesa de tese de Doutorado (Daisy Motta, Marcelo Rodrigues, Juliana Borges e Elirez Bezerra) por toda contribuição e amizade de sempre.

Finalizando, agradeço, principalmente, aos voluntários que participaram do estudo e contribuíram para os achados. Obrigado por tudo.



## RESUMO

CARDOZO, Gustavo Gonçalves. *Efeitos agudos do exercício físico realizado com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo sobre a reatividade vascular de jovens*. 2023. 120 f. Tese. (Doutorado em Ciências do Exercício e do Esporte) – Instituto de Educação Física e Desportos, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Introdução: O treinamento resistido de baixa intensidade realizado com restrição do fluxo sanguíneo (RFS) promove adaptações musculares favoráveis em jovens e idosos. No entanto, seus efeitos na função vascular ainda são pouco conhecidos. Objetivo: Elucidar os efeitos agudos promovidos pelo exercício físico com RFS sobre a função vascular. Métodos: A tese encontra-se estruturada em cinco capítulos, como segue: a) capítulo 1 - Introdução b) capítulo 2 – revisão sistemática de literatura, com buscas específicas nas bases *Pubmed*, *Web of Science*, *Scopus* e *Cochrane Library*, para compreender o estado da arte com as perguntas: “Quais os efeitos agudos promovidos pela RFS sobre a função endotelial em situação de exercício ou sem exercício?” e “Quais os efeitos de diferentes níveis de RFS sobre a função endotelial?”; As evidências disponíveis sugerem que o aumento do estresse de cisalhamento relacionado ao exercício leva a uma maior liberação de NO e maior FMD. A adição de RFS parece atenuar essa resposta. Uma relação dose-resposta entre o fluxo sanguíneo retrógrado provocado pelo RFS e a redução da função endotelial parece ocorrer em indivíduos jovens saudáveis e recreativamente ativos, mas não em indivíduos mais idosos. c) capítulo 3 – desenho do protocolo original; d) capítulo 4 – O estudo original em que foram avaliados 12 jovens do sexo masculino, com idade de 18 a 25 anos, eutróficos e sedentários, randomizados para realizar três protocolos experimentais: i) restrição do fluxo sanguíneo (ExRFS) – exercício de handgrip com intensidade de 30% da contração voluntária máxima (CVM) combinado com baixo nível de RFS realizado através de manguito de pressão inflado ao valor de 80% da pressão arterial oclusiva (PAO) de repouso; ii) pressão arterial oclusiva (ExPAO) – exercício de handgrip com intensidade de 30% da CVM combinado com oclusão vascular realizada através de manguito de pressão inflado ao valor de 120% da PAO de repouso; iii) controle (ExCON) – exercício de handgrip com intensidade de 30% da CVM realizado em condição de fluxo livre, ou seja, o manguito de pressão colocado no terço proximal do membro superior mas não foi inflado. Em todas as condições, o exercício foi realizado na cadência de 30 contrações/min até a fadiga voluntária. A reatividade vascular foi avaliada por pletismografia de oclusão venosa (vasodilatação endotélio dependente e independente). O fluxo sanguíneo de antebráço (FSA), após a hiperemia reativa, aumentou de forma significativa nos três modelos experimentais imediatamente após ao exercício, quando comparado às suas condições basais pré-exercício ( $p < 0,05$ ). Quando comparado às suas condições de hiperemia pré-exercício, os protocolos ExRFS e ExCON não apresentam diferenças significativas imediatamente após ao exercício ( $p > 0,05$ ), mas houve uma diminuição no valor do FSA na hiperemia reativa na condição ExPAO imediatamente após o exercício quando comparada a situação de hiperemia reativa pré-exercício (-23,7%;  $p < 0,05$ ). O FSA após a hiperemia reativa não apresentou variação significativa nos três modelos experimentais 30 minutos após ao exercício, quando comparado às suas condições de hiperemia reativa pré-exercício ( $p < 0,05$ ). O incremento percentual da hiperemia/basal apresentou reduções em todos os experimentos na situação imediatamente após o exercício, quando comparado ao pré-exercício (ExRFS = -71,61%; ExCON = -64,6% e ExPAO = -77,5%  $p < 0,05$ ). e) capítulo 5 – Considerações finais. Conclusão: Através dos resultados obtidos no estudo original da tese, concluiu-se que uma única sessão de exercício de preensão manual provocou um aumento agudo no FSA imediatamente após o exercício nos diferentes protocolos, tendendo a uma redução do FSA na hiperemia reativa imediatamente após o exercício no grupo ExPAO, porém retornando aos valores basais 30 min após ao término do exercício.

Palavras-chave: Treinamento de força. Oclusão vascular. Função endotelial.

## ABSTRACT

CARDOZO, Gustavo Gonçalves. *Acute effects of physical exercise performed with different levels of blood flow restriction on vascular reactivity in young*. 2023. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências do Exercício e do Esporte) – Instituto de Educação Física e Desportos, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Introduction: Low intensity resistance training performed with blood flow restriction (BFR) promotes favorable muscle adaptations in young and older people. However, its effects on vascular function are still little known. Objective: To elucidate the acute effects promoted by physical exercise with BFR on vascular function. Methods: The thesis is structured in five chapters, as follows: a) chapter 1 - Introduction b) chapter 2– systematic review, with specific searches *in pubmed, web of science, scopus and cochrane library*, to understand the state of the art with the questions: "What are the acute effects promoted by BFR on endothelial function in exercise or without exercise?" and "What are the effects of different levels of BFR on the endothelial function?"; The available evidence suggests that increased exercise-related shear stress leads to greater release of NO and increased FMD. The addition of BFR seems to mitigate this response. A dose-response relationship between retrograde blood flow caused by BFR and reduced endothelial function seems to occur in healthy and recreationally active young individuals, but not in older individuals. c) chapter 3 - design of the original protocol; d) chapter 4 – The original study in which 12 young males were evaluated, aged 18 to 25 years, eutrophic and sedentary, randomized to perform three experimental protocols: i) blood flow restriction (ExBFR) – handgrip exercise with intensity of 30% of the maximum voluntary contraction (MVC) combined with low level of BFR performed through an inflated pressure cuff at the value of 80% of occlusive blood pressure (OBP) at rest; ii) occlusive blood pressure (ExOBP) – handgrip exercise with intensity of 30% of MVC combined with vascular occlusion performed through an inflated pressure cuff at the value of 120% of resting PAO; iii) control (ExCON) – handgrip exercise with intensity of 30% of the MVC performed under a free flow condition, that is, the pressure cuff placed in the proximal third of the upper limb but is not inflated. In all conditions, the exercise was performed at the rate of 30 contractions/min until voluntary fatigue. All volunteers were evaluated for vascular reactivity by venous occlusion plethysmography (dependent and independent endothelium vasodilation). Forearm blood flow (FBF), after reactive hyperemia, increased significantly in the three experimental models immediately after exercise, when compared to their baseline before-exercise conditions ( $p < 0.05$ ). When compared to their before-exercise hyperemia conditions, the ExBFR and ExCON protocols did not show significant differences immediately after exercise ( $p > 0.05$ ), but there was a decrease in the FSA value in reactive hyperemia in the ExOBP condition immediately after exercise when compared to pre-exercise reactive hyperemia situation (-23.7%;  $p < 0.05$ ). The FBF after reactive hyperemia did not show significant variation in the three experimental models 30 minutes after exercise, when compared to their pre-exercise reactive hyperemia conditions ( $p < 0.05$ ). The percentage increment of hyperemia/basal presented reductions in all experiments in the situation immediately after the exercise, when compared to the pre-exercise (ExBFR = -71.61%; ExCON = -64.6% and ExOBP = - 77.5%  $p < 0.05$ ). e) chapter 5 – Final considerations. Conclusion: Through the results obtained in the original study of the thesis, it was concluded that a single session of handgrip exercise caused an acute increase in the FBF immediately after the exercise in the different protocols, tending to a reduction of the FBF in the reactive hyperemia immediately after the exercise in the ExOBP group, but returning to baseline values 30 min after the end of the exercise.

Keywords: Strength training. Vascular occlusion. Endothelial function.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Acute effects of exercise with blood flow restriction on endothelial function in young and older healthy populations: a systematic review. Figure 1. Flow diagram for the inclusion of trials in the review .....	29
Figura 2 – Acute effects of physical exercise with different levels of blood flow restriction on vascular reactivity and biomarkers of muscle hypertrophy, endothelial function and oxidative stress in young and elderly subjects – A randomized controlled protocol. Figure 1. Flowchart of the experimental design .....	49
Figura 3 – Acute effects of physical exercise with different levels of blood flow restriction on vascular reactivity and biomarkers of muscle hypertrophy, endothelial function and oxidative stress in young and elderly subjects – A randomized controlled protocol. Figure 2. Experimental sessions.....	50
Figura 4 - Estudo Original. Figura 1. Fluxograma do delineamento experimental.....	69
Figura 5 - Estudo Original. Figura 2. Sessões experimentais.....	70

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Acute effects of exercise with blood flow restriction on endothelial function in young and older healthy populations: a systematic review. Table 1. Summary of studies included in systematic review.....	32
Tabela 2 - Estudo original. Tabela 1. Características demográficas, dados de sessões experimentais, medidas hemodinâmicas e função vascular de condições experimentais.....	76
Tabela 3 - Estudo original. Tabela 2. Medida hemodinâmica e reatividade vascular antes e após 0 e 30 min de sessão de exercício de acordo com as condições experimentais.....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST	Área de secção transversa
ATP	Adenosina trifosfato
BIOVASC	Laboratório de Pesquisas Clínicas e Experimentais em Biologia Vascular
CEP	Comitê de Ética em Pesquisas
CVM	Contração voluntária máxima
EMP	Micropartículas endoteliais
eNOS	Enzima óxido nítrico sintase endotelial
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ET-1	Endotelina 1
ExRFS	Exercício com restrição do fluxo sanguíneo
ExPAO	Exercício com pressão arterial oclusiva
ExCON	Exercício em condição de fluxo livre
FAPERJ	Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FMD	Dilatação fluxo mediada
GH	Hormônio do crescimento
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IEFD	Instituto de Educação Física e Desportos
IGF-1	Fator de crescimento semelhante a insulina 1
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IPAQ	Questionário Internacional de Atividade Física
LABSAU	Laboratório de Atividade Física e Promoção da Saúde
mTOR	Mammalian target of rapamycin
ON	Óxido nítrico
PAO	Pressão arterial oclusiva
PPGCEE	Programa de Pós-Graduação em Ciências do Exercício e do Esporte
RFS	Restrição do fluxo sanguíneo
RM	Repetição máxima
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCTR	Thai Clinical Trials Registry
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
VCAM-1	Molécula de adesão vascular 1

## LISTA DE SÍMBOLOS

.	Ponto
,	Vírgula
;	Ponto e vírgula
:	Dois pontos
-	Traço
±	Mais ou menos
mmHg	Milímetros de mercúrio
=	Igual
≥	Maior ou igual que
%	Porcentagem
kg/m <sup>2</sup>	Quilograma por metro ao quadrado

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
1	<b>REVISÃO SISTEMÁTICA</b> .....	21
2	<b>ESTUDO DE PROTOCOLO</b> .....	43
3	<b>EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO FÍSICO COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESTRIÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO NA REATIVIDADE VASCULAR DE JOVENS SAUDÁVEIS – ESTUDO CONTROLADO RANDOMIZADO</b> .....	66
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	88
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	91
	<b>ANEXO A</b> – Estudo de Protocolo .....	101
	<b>ANEXO B</b> – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	102
	<b>ANEXO C</b> – Termo de Consentimento Livre Esclarecido.....	107
	<b>ANEXO D</b> – Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) versão curta .....	112
	<b>ANEXO E</b> – Fichas de condições prévias aos exames .....	114
	<b>ANEXO F</b> – Fichas de anotações sobre os voluntários .....	115
	<b>APÊNDICE A</b> - Dados demográficos dos voluntários.....	117
	<b>APÊNDICE B</b> - Dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExRFS.....	118
	<b>APÊNDICE C</b> - Dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExPAO.....	119
	<b>APÊNDICE D</b> - Dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExCON.....	120

## **ESTRUTURA DA TESE**

A presente tese de doutorado desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Ciências do Exercício e do Esporte do Instituto de Educação Física e Desportos da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (PPGCEE/IEFD/UERJ) se apresenta organizada sob forma de três estudos, organizados de modo a manterem coerência com o objetivo central. Além da introdução, foram estruturadas mais quatro seções, sendo a revisão sistemática da literatura, o protocolo experimental, o estudo original e as considerações finais. A seção 1 apresenta o artigo de revisão sistemática intitulado “Acute effects of exercise with blood flow restriction on endothelial function in young and older healthy populations: a systematic review”, que se encontra aceita para publicação no *Geriatrics, Gerontology and Aging*. A seção 2 apresenta o protocolo experimental do estudo original intitulado “Acute effects of physical exercise with different levels of blood flow restriction on vascular reactivity and biomarkers of muscle hypertrophy, endothelial function and oxidative stress in young and elderly subjects: a randomized controlled protocol”, publicado no *Contemporary Clinical Trials Communications*. A seção 3 apresenta o estudo intitulado “Efeitos agudos do exercício físico com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo na reatividade vascular de jovens saudáveis – Estudo controlado randomizado”. E, por fim, a seção 4 apresenta as considerações finais.



## INTRODUÇÃO

O treinamento resistido é considerado o mais importante tipo de intervenção para neutralizar as perdas musculares, preservando a autonomia para as atividades da vida diária e a qualidade de vida, sendo indicado para indivíduos com diferentes níveis de aptidão física e condições clínicas (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS; CHODZKO-ZAJKO; PROCTOR; FIATARONE SINGH *et al.*, 2009)

Segundo o Colégio Americano de Medicina do Esporte, para promoção de benefícios musculares, intensidades superiores 65% da força máxima são necessárias (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS; CHODZKO-ZAJKO; PROCTOR; FIATARONE SINGH *et al.*, 2009). No entanto, na prática profissional, percebe-se uma importante dificuldade por parte de algumas populações, em seguir tais recomendações de alta intensidade (GUALANO; NEVES; LIMA; PINTO *et al.*, 2010; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019). Como uma possível alternativa, estudos têm demonstrado que os exercícios de baixa intensidade realizados com restrição do fluxo sanguíneo (RFS) são capazes de promover importantes respostas hipertróficas, ganhos de força muscular e melhora do desempenho físico, mesmo quando comparados aos protocolos tradicionais que preconizam altas cargas para os mesmos fins (PATTERSON; HUGHES; WARMINGTON; BURR *et al.*, 2019), sugerindo potencial aplicabilidade clínica para indivíduos que sejam intolerantes a altas intensidades (CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019). Nesse grupo podem ser incluídos idosos (CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019) indivíduos com sarcopenia (LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019), em reabilitação musculoesquelética (HUGHES; PATON; ROSENBLATT; GISSANE *et al.*, 2017), e outras condições clínicas que implicam em perdas musculares (GUALANO; NEVES; LIMA; PINTO *et al.*, 2010; GUALANO; UGRINOWITSCH; NEVES; LIMA *et al.*, 2010; KAMBIČ; NOVAKOVIĆ; TOMAŽIN; STROJNIK *et al.*, 2019; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019).

O método foi proposto inicialmente pelo Dr. Yoshiaki Sato no Japão, onde era conhecido como "kaatsu", que significa "treinamento com pressão adicional" e, atualmente é realizado em todo o mundo e mais comumente referido como "treinamento com RFS" (PATTERSON; HUGHES; WARMINGTON; BURR *et al.*, 2019). É caracterizado pela utilização de intensidades de 20–40% de uma repetição máxima (1RM) associadas a variados níveis restritivos impostos mecanicamente ao vaso, a partir de percentuais da pressão arterial

oclusiva (PAO) de repouso (40–100%) ou usando pressões absolutas (50–300 mmHg). A técnica de RFS envolve a utilização de um sistema de torniquete pneumático aplicado na região proximal dos membros superiores e/ou inferiores. Quando o manguito é inflado, ocorre compressão mecânica gradual do vaso, resultando em restrição parcial ou total do fluxo sanguíneo arterial para estruturas distais ao manguito e impedindo o retorno venoso, o que resulta em suprimento inadequado de oxigênio (hipóxia) no tecido muscular (LARKIN; MACNEIL; DIRAIN; SANDESARA *et al.*, 2012; MANINI; CLARK, 2009).

Os mecanismos fisiológicos envolvidos nas adaptações morfofuncionais musculares parecem estar associados ao aumento do estresse metabólico intramuscular (hidrólise do ATP, depleção da fosfocreatina, aumento do fosfato inorgânico, redução do pH e incremento do lactato); aumento nos níveis plasmáticos de vários hormônios e fatores de crescimento, como hormônio do crescimento (GH), fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), testosterona e cortisol (TAKARADA; NAKAMURA; ARUGA; ONDA *et al.*, 2000); recrutamento de fibras musculares de contração rápida (TAKARADA; TAKAZAWA; SATO; TAKEBAYASHI *et al.*, 2000); ativação da *mammalian target of rapamycin* (mTOR) (FRY; GLYNN; DRUMMOND; TIMMERMAN *et al.*, 2010); diminuição da expressão da miostatina (GUALANO; NEVES; LIMA; PINTO *et al.*, 2010); aumento das proteínas de choque térmico (KAWADA; ISHII, 2008) e aumento da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS-1) (KAWADA; ISHII, 2008).

O treinamento com RFS revela-se como uma estratégia de intervenção eficaz, capaz de promover aumentos da massa e da força muscular (CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019). Por exemplo, Fry *et al.* observaram que o exercício de extensão dos joelhos a 20% da força máxima, realizado com oclusão vascular imposta mecanicamente por manguito de pressão inflado a 200 mmHg, foi capaz de ativar a mTOR e aumentar a síntese proteica muscular após uma única sessão de treinamento (FRY; GLYNN; DRUMMOND; TIMMERMAN *et al.*, 2010). Por sua vez, em um dos mais importantes estudos publicados até o presente momento, Takarada *et al.* observaram, em jovens atletas de elite de rugby, que 16 semanas de exercício com RFS (~110mmHg) foi capaz de aumentar a força isocinética e a área de secção transversa (AST) muscular (TAKARADA; TAKAZAWA; SATO; TAKEBAYASHI *et al.*, 2000). Corroborando esses resultados, Vechin *et al.* encontraram aumentos da força e da AST muscular em idosos, após a realização de exercício resistido com intensidades de 20–30% da força máxima associada a RFS de apenas 50% da pressão arterial

sistólica de repouso em apenas 12 semanas (VECHIN; LIBARDI; CONCEICAO; DAMAS *et al.*, 2015).

Em um interessante estudo de caso com paciente portador de miosite por corpúsculo de inclusão, doença degenerativa, autoimune, associada a uma importante atrofia muscular e, por conseguinte, bastante debilitante, Gualano *et al.* observaram aumento da AST da coxa e da força muscular em intervenção de apenas 12 semanas com o treinamento resistido associado a RFS (~65 mmHg), com aumento da expressão gênica de RNA-m e maior síntese proteica, resultado que permitiu, após o período de intervenção, a retomada da marcha (GUALANO; NEVES; LIMA; PINTO *et al.*, 2010).

Embora potencialmente relevantes no que diz respeito às possíveis aplicações clínicas (CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019), questões associadas à padronização metodológica e, conseqüentemente a segurança dessa intervenção na função vascular, comparando diferentes níveis de RFS deve ser melhor investigados (PATTERSON; HUGHES; WARMINGTON; BURR *et al.*, 2019). Devido à relevância clínica do exercício com RFS na utilização terapêutica de indivíduos sarcopênicos e/ou com comprometidos músculo-esqueléticos, é necessário considerar a segurança geral do método no que tange a saúde vascular.

Manter a integridade vascular é fundamental para saúde global, pois o endotélio desempenha funções importantes na manutenção do fluxo sanguíneo, permeabilidade microvascular, sinalização e angiogênese vascular, resposta inflamatória e regulação do tônus vascular (KISELEVA; GLASSMAN; GREINER; HOOD *et al.*, 2018). Este último é controlado pela produção de óxido nítrico (ON), prostaciclina, prostaglandinas, tromboxano, angiotensina II, endotelina 1 (ET-1) e espécies reativas de oxigênio (EROs). A disfunção endotelial é caracterizada por uma redução da vasodilatação e aumento do estado pró-inflamatório e pró-trombótico (RAJENDRAN; RENGARAJAN; THANGAVEL; NISHIGAKI *et al.*, 2013), sendo considerada preditora independente de aumento do risco cardiovascular (KISELEVA; GLASSMAN; GREINER; HOOD *et al.*, 2018; PERSSON, 2015).

Exercícios físicos vêm sendo preconizados para a promoção da saúde e o tratamento não farmacológico de doenças cardiovasculares (WILLIAMS; HASKELL; ADES; AMSTERDAM *et al.*, 2007). A força de cisalhamento do fluxo sanguíneo sobre o endotélio, chamada de shear stress, estimula a síntese de NO a partir do aminoácido L-arginina pela eNOS e estimula respostas celulares endoteliais ateroprotetoras, melhorando a homeostase

vascular (DURAND; GUTTERMAN, 2014). No entanto, a redução e/ou a oscilação da força de cisalhamento intravascular são estímulos potenciais para o desenvolvimento de um fenótipo vascular pró aterogênico, com formação e progressão precoce da placa aterosclerótica e consequente remodelação vascular.

Assim, considerando que a RFS altera a hemodinâmica fisiológica, o estresse potencial no sistema cardiovascular e a segurança geral foram questionadas (CRISTINA-OLIVEIRA; MEIRELES; SPRANGER; O'LEARY *et al.*, 2020; LOENNEKE; WILSON; WILSON; PUJOL *et al.*, 2011). É importante considerar o fluxo oscilatório consequente à pressão oclusiva, por ativar a expressão de genes pró-aterogênicos (HARRISON; WIDDER; GRUMBACH; CHEN *et al.*, 2006). Estudos realizados em modelos experimentais e *in vitro* sugerem que mudanças direcionais do fluxo de cisalhamento induz diferentes eventos celulares, como o aumento das moléculas de adesão leucocitárias, das moléculas de adesão vascular (ICAM-1 e VCAM-1) (CHAPPELL; VARNER; NEREM; MEDFORD *et al.*, 1998; HIMBURG; DOWD; FRIEDMAN, 2007), da expressão da ET-1 (ZIEGLER; BOUZOURENE; HARRISON; BRUNNER *et al.*, 1998), de EROs (DE KEULENAER; ALEXANDER; USHIO-FUKAI; ISHIZAKA *et al.*, 1998; HAWKE; GARRY, 2001), liberação de superóxido dismutase (MCNALLY; DAVIS; GIDDENS; SAHA *et al.*, 2003) e diminuição da expressão da eNOS (DE KEULENAER; ALEXANDER; USHIO-FUKAI; ISHIZAKA *et al.*, 1998), mostrando, assim, uma relação entre padrão de fluxo sanguíneo e disfunção endotelial.

Em estudos clínicos, Jenkins *et al.* demonstraram que o aumento do fluxo retrógrado induzido pela pressão oclusiva de 220 mmHg foi associada ao aumento da liberação de micropartículas de ativação CD62E+ e de apoptose endotelial CD31+ /CD42b-, produzindo um fenótipo endotelial pró-aterogênico (JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013). Por sua vez, Thijssen *et al.* verificaram que níveis crescentes de fluxo retrógrado, produzidos pela RFS, reduziram a dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial. Nesse estudo, pode ser observado que 30 min de RFS a 50 e 75 mmHg induziu a lesão endotelial por isquemia-reperfusão, o que não aconteceu a 25 mmHg, indicando que existe uma relação de dose-resposta entre nível crescente de restrição sanguínea e a disfunção endotelial (THIJSSSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009).

Em recente ensaio clínico controlado e randomizado publicado pelo nosso grupo, Lopes *et al.* demonstraram que o exercício de baixa intensidade (30% de 1RM) realizado com baixo nível restritivo (50% da pressão arterial oclusiva de repouso) foi eficaz para aumentar a

força muscular (17%) e a massa (6%) e melhorar os biomarcadores relacionados à hipertrofia (IGF-1; 2%) de idosos *vs.* alta e baixa intensidades sem RFS (70 e 30% de 1RM). Além disso, observaram melhora na função microvascular (LOPES; FARINATTI; BOTTINO; SOUZA *et al.*, 2022). Efeitos semelhantes já haviam sido publicados em revisões que deram ênfase nos modelos de exercício físico sem a RFS (DI FRANCESCO MARINO; SCIARTILLI; DI VALERIO; DI BALDASSARRE *et al.*, 2009).

Apesar de cada vez mais difundida na prática profissional, poucos são os estudos que avaliam os possíveis efeitos agudos do exercício realizado com RFS sobre a função vascular (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009). Paiva *et al.* observaram que uma única sessão de exercício de força de prensão manual com RFS provocou um aumento significativo da FMD 15 min após o exercício, retornando aos valores próximos aos basais em 60 min (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016). Tinken *et al.* também observaram que 30 min de exercício com RFS à 60 mmHg geraram mudanças na taxa de cisalhamento anterógrado e, por conseguinte, alterações na função endotelial (TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009).

A grande variabilidade metodológica, particularmente sobre o nível de restrição mecânica do fluxo sanguíneo imposto ao vaso e presença e ausência de exercício, dificulta a comparação dos resultados entre os estudos (AMORIM; ROLNICK; SCHOENFELD; AAGAARD, 2021). Parece não ser claro, até o presente momento, qual o nível adequado de restrição do fluxo capaz de potencializar as vias de sinalização metabólicas que levam ao aumento da massa muscular, ao passo que a saúde vascular, expressa por sua reatividade, seja preservada em jovens (DA CUNHA NASCIMENTO; SCHOENFELD; PRESTES, 2020).

A crescente popularidade do exercício com RFS em ambientes clínicos e de pesquisa requer uma melhor compreensão dos mecanismos associados às adaptações observadas e um refinamento contínuo dos métodos de implementação para otimizar a programação de treinamento e aumentar a homogeneidade dos estudos.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Comparar os efeitos agudos do exercício realizado com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo sobre a reatividade vascular de jovens.

### **Objetivos específicos**

- Comparar os efeitos agudos do exercício de força de preensão manual de baixa intensidade realizado sem e com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo sobre a reatividade vascular por pletismografia de oclusão venosa não invasiva de indivíduos jovens.

## **HIPÓTESE**

As respostas deletérias sobre a função vascular, durante uma sessão de exercício físico com restrição de fluxo sanguíneo, são dependentes do nível de restrição aplicado ao vaso.

## 1 REVISÃO SISTEMÁTICA

**Title:** Acute effects of exercise with blood flow restriction on endothelial function in young and older healthy populations: a systematic review

Aceito para publicação no periódico *Geriatrics, Gerontology and Aging*

Gustavo Gonçalves Cardozo<sup>1,2</sup>, Karynne Grutter Lopes<sup>3,4\*</sup>, Daniel Alexandre Bottino<sup>3,4</sup>, Maria das Graças Coelho de Souza<sup>3,4</sup>, Eliete Bouskela<sup>3,4</sup>, Paulo Farinatti<sup>1,2</sup>, Ricardo Brandão de Oliveira<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Graduate Program in Exercise and Sport Sciences, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>2</sup> Laboratory of Physical Activity and Health Promotion, Institute of Physical Education and Sports, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>3</sup> Graduate Program in Clinical and Experimental Physiopathology, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>4</sup> Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>5</sup> Laboratory of Active Living - Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

\* **Corresponding author:** Karynne Grutter Lopes, PhD. State University of Rio de Janeiro. Rua São Francisco Xavier, 524, Pavilhão Reitor Haroldo Lisboa da Cunha, sala 104, Maracanã, Rio de Janeiro, RJ, CEP 20550-013. Phone: (+55-21) 2334-0703; E-mail: kjgolrj@gmail.com

**ABSTRACT**

The objective of this review was to identify the acute effects of blood flow restriction (BFR) with vs. without exercise on the endothelial function in healthy individuals, and the changes in endothelial function in young and older adults following different levels of exclusive BFR vs. free flow. Systematic searches were performed in the following databases: Pubmed, Web of Science, Scopus, and Cochrane Library from inception to July 17, 2021. The studies included healthy individuals that underwent assessments of endothelial function pre- and post-experimental protocols through endothelium-dependent flow-mediated dilatation. A total of 4890 studies were screened, and 6 studies of moderate- to high methodological quality (Physiotherapy Evidence Database scores 6–10) including 82 subjects (24–68 years) were eligible. Overall, flow-mediated dilatation increased in the non-cuffed arm, immediately and 15 minutes post-exercise, with no change in the cuffed arm (BFR of 60–80 mmHg). In protocols without exercise, cuff pressures of 25–30 mmHg applied for 30 minutes did not promote changes in the endothelial function, while those > 50 mmHg induced a dose-dependent attenuation of flow-mediated dilatation only in young individuals. A moderate level of BFR appears to have no effect on endothelial function after acute exercise. In non-exercise conditions, reductions in flow-mediated dilatation seem to result from increased retrograde shear provoked by cuff pressures  $\geq$  50 mmHg in young, but not in older adults. Exercise-related increase in antegrade shear rate leads to greater nitric oxide-mediated vasodilator response. However, the BFR appears to attenuate this effect in young, but not in older individuals.

**KEYWORDS:** vasodilation; microvascular blood flow; exercise; health

This trial was registered in the PROSPERO database (CRD42020219686)

Word count: Main document – 2481; Abstract – 253; Table – 1; Figure – 1



## RESUMO

O objetivo desta revisão foi identificar os efeitos agudos da restrição do fluxo sanguíneo (RFS) com vs. sem exercício na função endotelial de indivíduos saudáveis, bem como as alterações na função endotelial em jovens e idosos após diferentes níveis de RFS vs. fluxo livre. Pesquisas sistemáticas foram realizadas nas bases United States National Library of Medicine (PubMed), Web of Science, Scopus e Cochrane Library até 17 de julho de 2021. Os estudos incluíram indivíduos saudáveis que avaliaram a função endotelial antes e após protocolos experimentais, por meio da dilatação mediada por fluxo. Foi selecionado o total de 4.890 estudos, e foram elegíveis seis de moderada a alta qualidade metodológica (Physiotherapy Evidence Database 6 – 10 pontos), incluindo 82 indivíduos (24 – 68 anos). No geral, a dilatação mediada por fluxo aumentou no braço sem manguito, imediatamente e 15 minutos após o exercício, sem alteração no braço com manguito (RFS de 60 – 80 mmHg). Em protocolos sem exercício, pressões do manguito de 25 – 30 mmHg aplicadas por 30 minutos não promoveram alterações na função endotelial, enquanto aquelas > 50 mmHg induziram uma atenuação dose-dependente da dilatação mediada por fluxo em indivíduos jovens. Um nível moderado de RFS parece não ter efeito na função endotelial após uma sessão de exercício. Em condições sem exercício, as reduções na dilatação mediada por fluxo parecem resultar do aumento do cisalhamento retrógrado provocado por pressões do manguito  $\geq 50$  mmHg em jovens, mas não em idosos. O aumento da taxa de cisalhamento anterógrado relacionada ao exercício leva a maior resposta vasodilatadora mediada pelo óxido nítrico. No entanto, a RFS parece atenuar esse efeito em jovens, mas não em idosos.

**Palavras-chave:** vasodilatação; microcirculação; exercício; saúde.

## INTRODUCTION

The endothelium plays an important role in the maintenance of vascular homeostasis, regulating cellular adhesion, smooth muscle cell proliferation, fibrinolysis, and inflammation (BONETTI; LERMAN; LERMAN, 2003). Endothelial function is influenced by several hemodynamic factors including the direction and magnitude of shear stress, and exercise has been pointed as an important stimulus that alters shear stress pattern and, consequently endothelial function, reducing the cardiovascular risk (GREEN; HOPMAN; PADILLA; LAUGHLIN *et al.*, 2017; LAUGHLIN, M. HAROLD; NEWCOMER, SEAN C.; BENDER, SHAWN B., 2008).

Acute exposure to oscillatory shear stress, characterized by a large retrograde component was associated with increased levels of endothelial cell apoptosis markers, eliciting a pro-inflammatory and pro-atherogenic endothelial phenotype (JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013). This phenomenon has been studied in the last few years, using models that apply an inflated tourniquet pressure around the limbs (JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013; ROCHA; GARCIA; BATISTA; SILVA *et al.*, 2018; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2014; 2015; STORCH; ROCHA; GARCIA; BATISTA *et al.*, 2018; THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009). Flow-mediated dilatation (FMD) is a commonly used method to identify endothelial dysfunction, which is considered the earliest stage of atherogenesis (THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009). FMD assesses the arterial diameter in response to 5 min ischemia, the so-called reactive hyperemia (i.e., increases in blood flow associated with shear stress)(BLACK; CABLE; THIJSEN; GREEN, 2008; CORRETTI; ANDERSON; BENJAMIN; CELERMAJER *et al.*, 2002; HARRIS; NISHIYAMA; WRAY; RICHARDSON, 2010), that reflects the endothelial-derived nitric oxide (NO) bioavailability. The dose-response relationship between the magnitude of blood flow restriction (BFR),

associated or not with exercise, with FMD reduction still needs to be better elucidated, especially in different age groups (SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2014; 2015). This relationship is important to be established due to the strong association between aging and endothelial dysfunction (SEALS; JABLONSKI; DONATO, 2011).

Although shear stress has been recognized as an important factor responsible for exercise-induced vascular adaptations (HUNT; WALTON; FERGUSON, 2012; LAUGHLIN, M. H.; NEWCOMER, S. C.; BENDER, S. B., 2008; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; DAWSON *et al.*, 2010), BFR can disturb blood flow and alter shear stress patterns (JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013; ROCHA; GARCIA; BATISTA; SILVA *et al.*, 2018; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2014; 2015; STORCH; ROCHA; GARCIA; BATISTA *et al.*, 2018; THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009), mitigating the beneficial effects of physical exercise on vascular function (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016). This is particularly relevant, considering the increased interest in a novel modality of physical training that combines exercise and BFR. The BFR training has been acknowledged as an intervention capable to enhance the metabolic signaling pathways associated with hypertrophy and strength gain in groups with poor tolerance to exercise with higher loads such as older adults (CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019), patients with orthopedic diseases (HUGHES; PATON; ROSENBLATT; GISSANE *et al.*, 2017) and other frail populations (GUALANO; UGRINOWITSCH; NEVES; LIMA *et al.*, 2010; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019).

Previous trials comparing the effects of different levels and periods of BFR in the presence or absence of exercise on endothelial function produced diverging results (HORIUCHI; OKITA, 2012). Some trials have demonstrated that BFR exercise may lead to enhanced vascular reactivity such as FMD responses (HUNT; WALTON; FERGUSON,

2012), while others failed to demonstrate benefits on endothelial function (CREDEUR; HOLLIS; WELSCH, 2010; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; RENZI; TANAKA; SUGAWARA, 2010). Several factors may help to explain those mixed findings, such as age, sex, exercise modality, BFR protocols, and methods to assess vascular function (HUNT; WALTON; FERGUSON, 2012; RENZI; TANAKA; SUGAWARA, 2010; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2015).

Investigate the acute responses of BFR on endothelium can provide insight into the causes of longer-term adaptation, expanding the knowledge of this type of intervention and its clinical applications, especially in populations, in which the use of higher loads is limited. Thus, the objective of this systematic review was to identify the acute effects of BFR with vs. without exercise on endothelial function in healthy individuals. In addition, we examined the changes in endothelial function in young and older adults following different levels of BFR (without exercise) vs. free flow. For this purpose, the magnitude of endothelium-dependent FMD was adopted as the main indicator of endothelial health. Our hypothesis is that BFR acutely promotes negative effects on endothelial function only in young subjects. Furthermore, when compared to the isolated BFR, the BFR associated to exercise leads to less deleterious effects on the vessel.

## **METHODS**

This systematic review is consistent with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA)(PAGE; MCKENZIE; BOSSUYT; BOUTRON *et al.*, 2021) and registered in the International Prospective Registry of Systematic Reviews (PROSPERO) database as CRD42020219686. This study is a systematic review and, therefore, did not involve human subjects and did not require ethical committee approval.

### **Selection criteria**

Qualifying trials complied with the PICOS strategy and included the following: trials including adult populations (>18 years); at least one group performing an acute dynamic handgrip exercise with BFR (until 60 min after cessation of the exercise) and a non-exercise control or comparison group; endothelial function assessed through FMD pre- and post-intervention for the BFR and control groups. We excluded animal, epidemiological, pharmacological, and review studies; trials including samples under medication influencing vascular function or blood flow; involved smokers, alcoholics, or drug addicts; or involved diet, drug, environmental or supplement interventions *in addition* to BFR and/or exercise. Since endothelial dysfunction rarely occurs in isolation (i.e., clusters with metabolic or cardiovascular risk factors), studies that included populations exhibiting clinical conditions related to cardiovascular risk (e.g., cancer, HIV/AIDS) were excluded. The exclusion criteria adopted were the same for studies with samples of young and elderly individuals.

### **Search strategy and data sources**

For the identification of relevant studies, multiple electronic databases were searched from their inception until July 17, 2021 (Pubmed, Web of Science, Scopus, and Cochrane Library). A search strategy using terms related to “blood flow restriction” OR “vascular occlusion” OR “kaatsu” OR “blood occlusion” OR “blood flow occlusion” OR “venous restriction” OR “restricted blood flow” OR “restricted venous blood flow” AND “vascular” OR “endothelial” OR “retrograde” AND “exercise” identified potentially relevant reports that were published in English.

### **Data extraction and study outcomes**

Potentially relevant reports were screened in duplicate (KGL and GGC) first by title, then by title and abstract, and lastly by full-text review. Reference lists of included studies, recent reviews, and meta-analyses were searched for additional qualifying reports. A third investigator (RBO) arbitrated any disagreements in coding. To assess the reliability of study

inclusion, double coding was assessed with 20 randomly selected abstracts employing Cohen's kappa ( $k = 1.0$ ;  $p < 0.05$ ). Excluded studies were re-screened as a quality control measure.

Extracted data included (but not restricted to) variables related to age, sex/gender, clinical status, exercise characteristics (intensity, duration, and mode), BFR characteristics (magnitude of cuff pressure, duration, and cuff placement), FMD outcomes, and study quality.

### **Study quality**

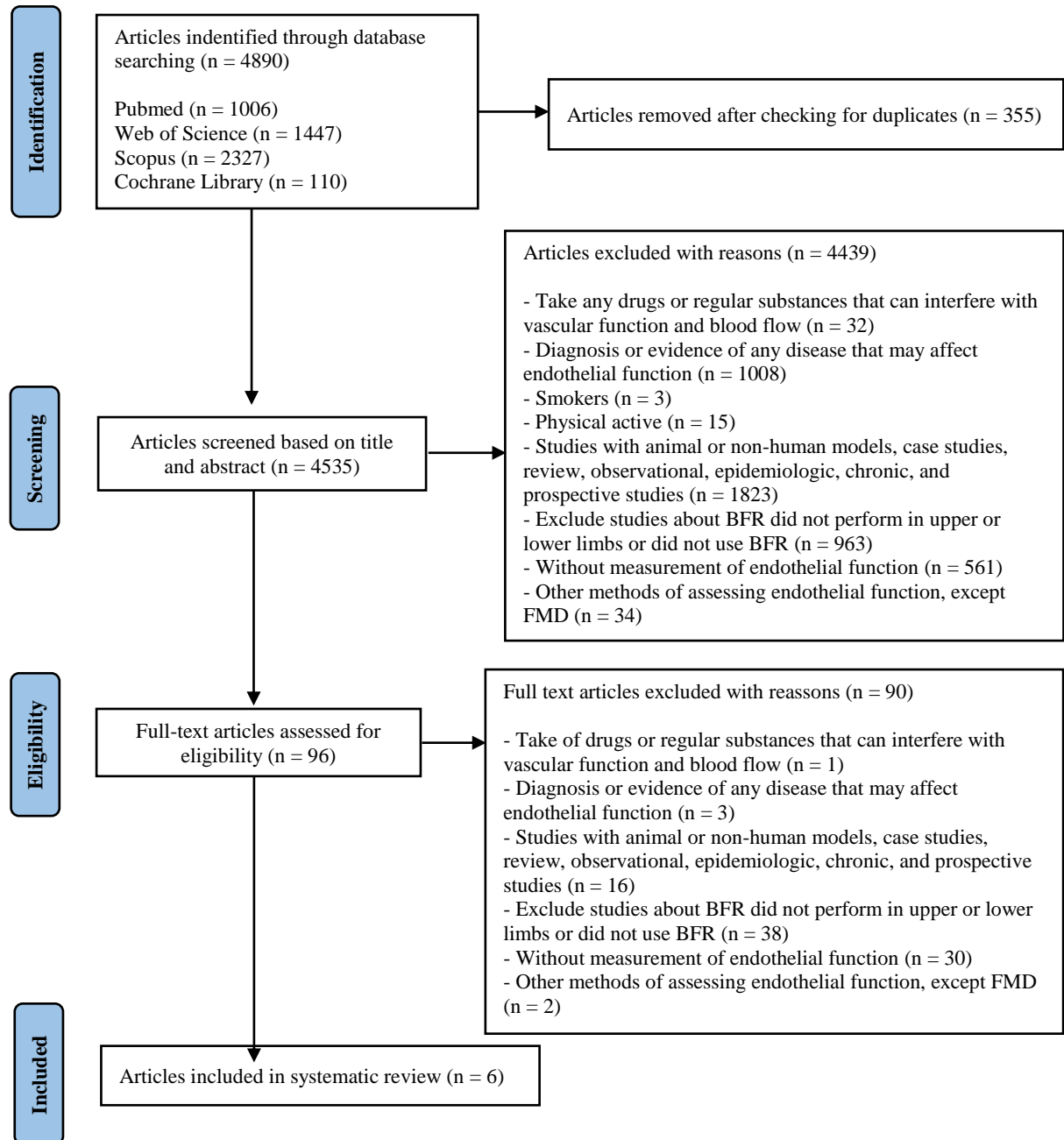
Study quality was assessed through the Physiotherapy Evidence Database (PEDro) Scale, a 10-point checklist with higher scores indicating better study quality.(VERHAGEN; DE VET; DE BIE; KESSELS *et al.*, 1998) Two coders independently performed the data extraction and exhibited higher inter-rater reliability (mean Cohen's  $\kappa = 1.0$ ).

## **RESULTS**

### **Study Selection and quality**

Figure 1 shows the flow of reports in the systematic review. Of the initially selected 4,890 studies, only six trials presenting BFR and FMD at pre- and post-intervention conditions satisfied the eligibility criteria. Of those, one was conducted in Brazil, two in the Netherlands, and three in the United Kingdom (DAWSON; BOIDIN; THOMPSON; CABLE *et al.*, 2021; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2014; 2015; THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009). The trials were of moderate methodological study quality (all studies scored 6 points on PEDro Scale), mostly due to the nature of BFR intervention – in general, groups were not randomized, and participants or researchers were not blind for the BFR or exercise interventions.

**FIGURE 1.** Flow diagram for the inclusion of trials in the review



BFR, blood flow restriction; FMD, flow mediated dilatation

Fonte: CARDOZO, GG, 2023.

## Study characteristics and major outcomes

Table 1 depicts the characteristics and outcomes of the studies included in the systematic review. Two studies compared the changes in endothelial function following exercise with *vs.* without BFR, including 19 young men ( $28 \pm 7$  years), healthy (no cardiovascular or metabolic disease and or use of any medication that can influence the cardiovascular system) and recreationally active ( $< 150$  min/week of moderate or 75 min/week of high-intensity physical activity) (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009). Both trials applied low-intensity dynamic handgrip exercise (1 to 2 kg or 60% of maximum voluntary contraction), moderate levels of BFR (60 or 80 mm Hg) through cuffs placed on the forearms and assessed the brachial artery vasodilation response. The cuff pressure duration ranged from 20- to 30 min, and the non-cuffed arm served as a control condition. The FMD in the non-cuffed arm increased immediately (TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009) and 15 min post-exercise,(PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016) while no significant change occurred in the cuffed arm.(PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009). After 60 min, FMD returned to baseline values with no difference between both conditions (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016). No adverse effects were reported during exercise sessions (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009).

Four studies evaluated changes in endothelial function at different levels of BFR without exercise, including 48 young (24- to 27 years) (DAWSON; BOIDIN; THOMPSON; CABLE *et al.*, 2021; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2014; THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009) and 15 older subjects ( $68 \pm 9$  years)



(SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2015), who were healthy and recreationally active. The older adults presented a body mass index of  $26.2 \pm 3.4 \text{ kg/m}^2$ , and without a diagnosis of cardiovascular disease or severe hypertension. The studies applied low- to moderate levels of BFR (25–75 mmHg) on the forearms, upper arm, or thigh (DAWSON; BOIDIN; THOMPSON; CABLE *et al.*, 2021; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2014; 2015; THIJSSSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009). Cuff pressure lasted 30 min and the non-cuffed arm was used as a control condition (DAWSON; BOIDIN; THOMPSON; CABLE *et al.*, 2021; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2014; 2015; THIJSSSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009). All trials assessed FMD in the brachial artery while two studies performed additional assessments on the femoral artery (SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2014; 2015). Overall, cuff pressures below 30 mm Hg did not alter FMD, while pressures greater than 50 mmHg induced a dose-dependent reduction in endothelial function in young (DAWSON; BOIDIN; THOMPSON; CABLE *et al.*, 2021; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2014; THIJSSSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009), but not in older individuals (SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2015).

**TABLE 1.** Summary of studies included in systematic review

<i>Study</i>	<i>Subjects</i>	<i>Sample Size</i>	<i>Age (years)</i>	<i>Type of exercise or experimental protocol</i>	<i>Exercise intensity</i>	<i>Cuff pressure level (mmHg)</i>	<i>Cuff pressure duration (min)</i>	<i>Cuff placement</i>	<i>Reference artery</i>	<i>Measures of endothelial function</i>	<i>Outcomes</i>
Tinken <i>et al.</i>	Young men, recreationally active	10	28 ± 7	Dynamic handgrip exercise with cuffed and non-cuffed arm	1-2 kg	60	30	Forearm	Brachial artery	Pre and post-exercise	Non-cuffed arm: ↑ FMD Cuffed arm: ↔ FMD
Paiva <i>et al.</i>	Young men, recreationally active	9	28 ± 5.8	Dynamic handgrip exercise with (EXP arm) and without BFR (CON arm)	60% of MVC	80	20	Forearm	Brachial artery	Baseline, 15, and 60 min post-exercise	CON arm: 15 min ↑ FMD EXP arm: 15 and 60 min ↔ FMD
Thijssen <i>et al.</i>	Young men, recreationally active	10	24 ± 3	Cuff intervention (25, 50, or 75 mm Hg) vs. non-cuffed arm	-	25, 50, 75	30	Forearm	Brachial artery	Baseline, and after each intervention	Non-cuffed arm: ↔ FMD Cuffed arm 25 mmHg: ↔ FMD 50 and 75 mmHg: ↓ FMD
Schreuder <i>et al.</i>	Young men, recreationally active	13	24 ± 3	Randomized cuff intervention (0, 30, 60 mmHg)	-	0, 30, 60	30	Forearm or thigh	Brachial artery, superficial femoral artery	Baseline, and after each intervention	0 and 30 mmHg: ↔ FMD 60 mmHg: ↓ FMD
Schreuder <i>et al.</i>	Older men, recreationally active	15	68 ± 9	Cuff intervention (0, 30, 60 mmHg)	-	0, 30, 60	30	Forearm or thigh	Brachial artery, superficial femoral artery	Baseline, and after each intervention	↔ FMD for all conditions
Dawson <i>et al.</i>	Young men	25	27 ± 4	Cuff placed on the forearm or upper arm (distal or proximal) (60 and 0 mmHg)	-	60	30	Forearm or upper arm	Brachial artery	Baseline, and after each intervention	0 mmHg: ↔ FMD Distal cuff: ↓ FMD Proximal cuff: ↑ FMD

FMD: flow-mediated dilation; EXP: experimental; CON: control; MVC: maximum voluntary contraction; ↑: increased; ↔: maintained; ↓: decreased

Fonte: CARDOZO, GG, 2023.

## DISCUSSION

This systematic review summarized the results of trials investigating the acute effects of BFR applied with different magnitudes with and without exercise on endothelial function in young and older individuals. Although limited in number, the studies accumulated evidence indicating that an acute increase in anterograde shear rate promoted by exercise leads to improvements in FMD in healthy young individuals. On the other hand, exercise performed with BFR seems to attenuate the transient vascular benefits of isolated acute exercise. Finally, increases in retrograde shear rate promoted by cuff inflation over 50 mmHg seem to provoke a dose-dependent decline in endothelium-mediated vasodilation, at least in young individuals.

It is widely accepted that exercise-induced increases in arterial blood flow and shear stress play an important role in vascular health (LAUGHLIN, M. H.; NEWCOMER, S. C.; BENDER, S. B., 2008; PYKE; POITRAS; TSCHAKOVSKY, 2008). Exercise is a key factor for NO-releasing from the endothelium. Besides its vasodilator effects, NO is a potent mediator inhibiting vascular smooth muscle contraction, platelet aggregation, and leukocyte adhesion (DAWSON; GREEN; CABLE; THIJSEN, 2013). Several previous studies reported increases in brachial artery FMD following acute and chronic exercise (RAMOS; DALLECK; TJONNA; BEETHAM *et al.*, 2015; SIASOS; ATHANASIOU; TERZIS; STASINAKI *et al.*, 2016; SILVA; MENÊSES; PARMENTER; RITTI-DIAS *et al.*, 2021). Exercise training is known to improve peripheral vascular function and structure (reflected by increased FMD) (LAUGHLIN, M. H.; NEWCOMER, S. C.; BENDER, S. B., 2008), inducing clinically relevant benefits for different populations (KAMADA; SHIROMA; BURING; MIYACHI *et al.*, 2017; KODAMA; SAITO; TANAKA; MAKI *et al.*, 2009; SAEIDIFARD; MEDINA-INOJOSA; WEST; OLSON *et al.*, 2019).

Cuff inflation appears to promote modifications in brachial artery shear stress and oscillatory flow patterns reducing the ante-/retrograde ratio in the experimental exercised arm

and impairing the exercise-related benefits. Acute studies showed that FMD increased immediately and 15 min post-exercise in the non-cuffed arm, with no changes in the cuffed arm (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009). In addition, at least one trial showed that the endothelium-independent vasodilation in the brachial artery, followed by the administration of sublingual glyceryl trinitrate remained unaffected after exercise performed with and without cuff inflation (TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; DAWSON *et al.*, 2010). These results reinforce that the manipulation of antegrade/retrograde flow during a single session of exercise can result in distinct responses in vascular function, and that intraluminal shear stress stimulates NO-mediated endothelium-dependent dilation, not affecting the smooth muscle response reflected by endothelial independent vasodilatation.

Physiological mechanisms underlying vascular damage or dysfunction are complex. FMD decrease is a consequence of hemodynamic changes, greater sympathetic activity, increase in oxidative stress/inflammation, or dysfunction of vascular smooth muscle cells (ATKINSON; LEWIS; CARTER; THIJSEN *et al.*, 2015; GONZALES; THOMPSON; THISTLETHWAITE; SCHEUERMANN, 2011; RODRIGUEZ; ROSENFELD; TARNOPOLSKY, 2003; THIJSEN; ATKINSON; ONO; SPRUNG *et al.*, 2014) are possible explanations that require more detailed investigation. It is important to consider that the time points of post-exercise measurements in presently reviewed studies (immediate, 15 min, and 30 min after exercise)(PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009) do not take into account a possible biphasic change in FMD and therefore exercise-related transient decrease in vasodilation (DAWSON; GREEN; CABLE; THIJSEN, 2013). Although the application of moderate restrictive pressure in association with low loads may induce considerable hypertrophy and strength gain (LIXANDRÃO; UGRINOWITSCH; BERTON; VECHIN *et al.*, 2018), the potential

occurrence of negative effects on endothelial function (CREDEUR; HOLLIS; WELSCH, 2010; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009; TINKEN; THIJSEN; HOPKINS; DAWSON *et al.*, 2010) should be considered when prescribing this training method.

In experimental protocols without exercise, cuff pressures  $\geq 50$  mm Hg increased the retrograde shear rate, impairing endothelial function in young subjects (DAWSON; GREEN; CABLE; THIJSEN, 2013; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2014; THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009), but FMD decreases were not detected in a single trial including older individuals (SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2015). Albeit limited, this evidence is suggestive of an age-dependent response of endothelial function to similar arterial hemodynamic occlusion forces. Oscillatory shear stress patterns can induce a pro-atherogenic vascular phenotype (CHENG; TEMPEL; VAN HAPEREN; VAN DER BAAN *et al.*, 2006). Previous studies demonstrated a reduction endothelial NO synthase (eNOS) expression (ZIEGLER; BOUZOURENE; HARRISON; BRUNNER *et al.*, 1998) and increased expression of adhesion molecules (CHAPPELL; VARNER; NEREM; MEDFORD *et al.*, 1998), inflammatory mediators (CHENG; TEMPEL; VAN HAPEREN; VAN DER BAAN *et al.*, 2006), endothelin-1 (ZIEGLER; BOUZOURENE; HARRISON; BRUNNER *et al.*, 1998) and oxidative stress (WANG; WANG; KONG; GAO *et al.*, 2019) as a consequence of increased shear stress. Moreover, the retrograde blood flow has been associated with a greater release of cellular markers of endothelial activation or apoptosis (JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013), reinforcing its relationship with endothelial dysfunction.

The absence of endothelial function impairment in older subjects after restrictive pressures could be related to an attenuated ability to adapt in response to shear rate resulting in *a priori* lower FMD. The decreased NO bioavailability contributes to lower endothelium-

dependent vasodilation among older individuals (TADDEI; VIRDIS; MATTEI; GHIADONI *et al.*, 1995). In addition, the reduced vascular smooth muscle responsiveness (MONTERO; PIERCE; STEHOUWER; PADILLA *et al.*, 2015), increased arterial stiffness (NAVAR, 2014), and/or hyperactive sympathetic system (HIJMERING; STROES; OLIJHOEK; HUTTEN *et al.*, 2002) may be associated with these findings. Finally, the magnitude or duration of the retrograde shear stimulus was insufficient to compromise endothelial function in that specific older sample (JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013). Further research is needed to clarify the underlying physiological mechanisms associated with the lower responsiveness to retrograde shear induced by BFR observed in old individuals when compared to younger ones.

#### LIMITATIONS AND PRACTICAL IMPLICATIONS

Some limitations of current research investigating the acute effects of BFR exercise on endothelial function in healthy individuals should be acknowledged. Firstly, the trials included mostly healthy young men, while factors such as age and sex-related hormonal variations and cardiometabolic diseases may influence endothelial function (EL KHOUDARY; AGGARWAL; BECKIE; HODIS *et al.*, 2020; TREMBLAY; STIMPSON; PYKE, 2019). However, this seems to reflect a limitation of the current literature rather than of the present review. In addition, albeit limited the studies investigating the impact of BFR on endothelial function are heterogeneous regarding to methodology (intensity of exercise, cuff placement site, reference artery, and assessments), which precluded further inferences about the determinants of changes in FMD. Trials applying multiple post-exercise measurements are warranted to determine whether a biphasic and transient decrease in vascular function occurs in different age groups and clinical populations subjected to BFR with and without exercise. The major limitation of the study is the small number of trials included in the review, especially when we consider the number of studies with older adults

(only one). In addition, those studies included small sample sizes (82 individuals) and showed moderate methodological quality (PEDro scale of 6 for all studies). This occurred especially in relation to the absence of randomization of groups and the blinding of participants or researchers to the blood restriction or exercise interventions. Albeit it is not feasible due to the type of intervention.

As to practical implications, the result of the systematic review suggests the increasing levels of BFR appear to attenuate the vascular benefits promoted by physical exercise in young, but not in older adults. Although further studies are needed to determine the acute safety, our results suggest that older adults may benefit from BFR training to improve muscle mass and strength, and physical capacity while preserving vascular health.

## **CONCLUSION**

The available evidence suggests that the exercise-related increase in shear stress leads to greater NO release and FMD. The addition of BFR appears to attenuate this response. A dose-response relationship between retrograde blood flow elicited by BFR and reduction in endothelial function seems to occur in healthy and recreationally active young subjects, but not in older individuals. Future research is needed to elucidate the determinants of FMD changes associated to exercise (type, duration, and intensity) and BFR (magnitude and duration) in different clinical populations as well as the potential underlying mechanisms involved.

## REFERENCES

- ATKINSON, C. L.; LEWIS, N. C.; CARTER, H. H.; THIJSSSEN, D. H. *et al.* Impact of sympathetic nervous system activity on post-exercise flow-mediated dilatation in humans. **J Physiol**, 593, n. 23, p. 5145-5156, Dec 1 2015.
- BLACK, M. A.; CABLE, N. T.; THIJSSSEN, D. H.; GREEN, D. J. Importance of measuring the time course of flow-mediated dilatation in humans. **Hypertension**, 51, n. 2, p. 203-210, Feb 2008.
- BONETTI, P. O.; LERMAN, L. O.; LERMAN, A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 23, n. 2, p. 168-175, Feb 1 2003.
- CENTNER, C.; WIEGEL, P.; GOLLHOFER, A.; KONIG, D. Effects of Blood Flow Restriction Training on Muscular Strength and Hypertrophy in Older Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, 49, n. 1, p. 95-108, Jan 2019.
- CHAPPELL, D. C.; VARNER, S. E.; NEREM, R. M.; MEDFORD, R. M. *et al.* Oscillatory shear stress stimulates adhesion molecule expression in cultured human endothelium. **Circ Res**, 82, n. 5, p. 532-539, Mar 23 1998.
- CHENG, C.; TEMPEL, D.; VAN HAPEREN, R.; VAN DER BAAN, A. *et al.* Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress. **Circulation**, 113, n. 23, p. 2744-2753, Jun 13 2006.
- CORRETTI, M. C.; ANDERSON, T. J.; BENJAMIN, E. J.; CELERMAJER, D. *et al.* Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. **J Am Coll Cardiol**, 39, n. 2, p. 257-265, Jan 16 2002.
- CREDEUR, D. P.; HOLLIS, B. C.; WELSCH, M. A. Effects of handgrip training with venous restriction on brachial artery vasodilation. **Med Sci Sports Exerc**, 42, n. 7, p. 1296-1302, Jul 2010.
- DAWSON, E. A.; BOIDIN, M.; THOMPSON, R.; CABLE, N. T. *et al.* Impact of proximal and distal cuff inflation on brachial artery endothelial function in healthy individuals. **Eur J Appl Physiol**, 121, n. 4, p. 1135-1144, Apr 2021.
- DAWSON, E. A.; GREEN, D. J.; CABLE, N. T.; THIJSSSEN, D. H. Effects of acute exercise on flow-mediated dilatation in healthy humans. **J Appl Physiol (1985)**, 115, n. 11, p. 1589-1598, Dec 2013.
- EL KHOUDARY, S. R.; AGGARWAL, B.; BECKIE, T. M.; HODIS, H. N. *et al.* Menopause Transition and Cardiovascular Disease Risk: Implications for Timing of Early Prevention: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Circulation**, 142, n. 25, p. e506-e532, Dec 22 2020.
- GONZALES, J. U.; THOMPSON, B. C.; THISTLETHWAITE, J. R.; SCHEUERMANN, B. W. Association between exercise hemodynamics and changes in local vascular function following acute exercise. **Appl Physiol Nutr Metab**, 36, n. 1, p. 137-144, Feb 2011.



GREEN, D. J.; HOPMAN, M. T. E.; PADILLA, J.; LAUGHLIN, M. H. *et al.* Vascular Adaptation to Exercise in Humans: Role of Hemodynamic Stimuli. **Physiological reviews**, 97, n. 2, p. 495-528, 2017.

GUALANO, B.; UGRINOWITSCH, C.; NEVES, M., JR.; LIMA, F. R. *et al.* Vascular occlusion training for inclusion body myositis: a novel therapeutic approach. **J Vis Exp**, n. 40, Jun 5 2010.

HARRIS, R. A.; NISHIYAMA, S. K.; WRAY, D. W.; RICHARDSON, R. S. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. **Hypertension**, 55, n. 5, p. 1075-1085, May 2010.

HIJMERING, M. L.; STROES, E. S.; OLIJHOEK, J.; HUTTEN, B. A. *et al.* Sympathetic activation markedly reduces endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation. **J Am Coll Cardiol**, 39, n. 4, p. 683-688, Feb 20 2002.

HORIUCHI, M.; OKITA, K. Blood flow restricted exercise and vascular function. **Int J Vasc Med**, 2012, p. 543218, 2012.

HUGHES, L.; PATON, B.; ROSENBLATT, B.; GISSANE, C. *et al.* Blood flow restriction training in clinical musculoskeletal rehabilitation: a systematic review and meta-analysis. **Br J Sports Med**, 51, n. 13, p. 1003-1011, Jul 2017.

HUNT, J. E.; WALTON, L. A.; FERGUSON, R. A. Brachial artery modifications to blood flow-restricted handgrip training and detraining. **J Appl Physiol (1985)**, 112, n. 6, p. 956-961, Mar 2012.

JENKINS, N. T.; PADILLA, J.; BOYLE, L. J.; CREDEUR, D. P. *et al.* Disturbed blood flow acutely induces activation and apoptosis of the human vascular endothelium. **Hypertension**, 61, n. 3, p. 615-621, Mar 2013.

KAMADA, M.; SHIROMA, E. J.; BURING, J. E.; MIYACHI, M. *et al.* Strength Training and All-Cause, Cardiovascular Disease, and Cancer Mortality in Older Women: A Cohort Study. **J Am Heart Assoc**, 6, n. 11, Oct 31 2017.

KODAMA, S.; SAITO, K.; TANAKA, S.; MAKI, M. *et al.* Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. **Jama**, 301, n. 19, p. 2024-2035, May 20 2009.

LAUGHLIN, M. H.; NEWCOMER, S. C.; BENDER, S. B. Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, 104, n. 3, p. 588-600, 2008.

LAUGHLIN, M. H.; NEWCOMER, S. C.; BENDER, S. B. Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype. **J Appl Physiol (1985)**, 104, n. 3, p. 588-600, Mar 2008.

LIXANDRÃO, M. E.; UGRINOWITSCH, C.; BERTON, R.; VECHIN, F. C. *et al.* Magnitude of Muscle Strength and Mass Adaptations Between High-Load Resistance

Training Versus Low-Load Resistance Training Associated with Blood-Flow Restriction: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, 48, n. 2, p. 361-378, Feb 2018.

LOPES, K. G.; BOTTINO, D. A.; FARINATTI, P.; DE SOUZA, M. *et al.* Strength training with blood flow restriction - a novel therapeutic approach for older adults with sarcopenia? A case report. **Clin Interv Aging**, 14, p. 1461-1469, 2019.

MONTERO, D.; PIERCE, G. L.; STEHOUWER, C. D. A.; PADILLA, J. *et al.* The impact of age on vascular smooth muscle function in humans. **Journal of hypertension**, 33, n. 3, p. 445-453, 2015.

NAVAR, L. G. Physiology: hemodynamics, endothelial function, renin-angiotensin-aldosterone system, sympathetic nervous system. **Journal of the American Society of Hypertension : JASH**, 8, n. 7, p. 519-524, 2014/07// 2014.

PAGE, M. J.; MCKENZIE, J. E.; BOSSUYT, P. M.; BOUTRON, I. *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **Bmj**, 372, p. n71, Mar 29 2021.

PAIVA, F. M.; VIANNA, L. C.; FERNANDES, I. A.; NÓBREGA, A. C. *et al.* Effects of disturbed blood flow during exercise on endothelial function: a time course analysis. **Braz J Med Biol Res**, 49, n. 4, p. e5100, 2016.

PYKE, K. E.; POITRAS, V.; TSCHAKOVSKY, M. E. Brachial artery flow-mediated dilation during handgrip exercise: evidence for endothelial transduction of the mean shear stimulus. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 294, n. 6, p. H2669-2679, Jun 2008.

RAMOS, J. S.; DALLECK, L. C.; TJONNA, A. E.; BEETHAM, K. S. *et al.* The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. **Sports Med**, 45, n. 5, p. 679-692, May 2015.

RENZI, C. P.; TANAKA, H.; SUGAWARA, J. Effects of leg blood flow restriction during walking on cardiovascular function. **Med Sci Sports Exerc**, 42, n. 4, p. 726-732, Apr 2010.

ROCHA, H. N. M.; GARCIA, V. P.; BATISTA, G. M. S.; SILVA, G. M. *et al.* Disturbed blood flow induces endothelial apoptosis without mobilizing repair mechanisms in hypertension. **Life Sci**, 209, p. 103-110, Sep 15 2018.

RODRIGUEZ, M. C.; ROSENFELD, J.; TARNOPOLSKY, M. A. Plasma malondialdehyde increases transiently after ischemic forearm exercise. **Med Sci Sports Exerc**, 35, n. 11, p. 1859-1865, Nov 2003.

SAEIDIFARD, F.; MEDINA-INOJOSA, J. R.; WEST, C. P.; OLSON, T. P. *et al.* The association of resistance training with mortality: A systematic review and meta-analysis. **Eur J Prev Cardiol**, 26, n. 15, p. 1647-1665, Oct 2019.

SCHREUDER, T. H.; GREEN, D. J.; HOPMAN, M. T.; THIJSSSEN, D. H. Acute impact of retrograde shear rate on brachial and superficial femoral artery flow-mediated dilation in humans. **Physiol Rep**, 2, n. 1, p. e00193, Jan 1 2014.

SCHREUDER, T. H.; GREEN, D. J.; HOPMAN, M. T.; THIJSSSEN, D. H. Impact of retrograde shear rate on brachial and superficial femoral artery flow-mediated dilation in older subjects. **Atherosclerosis**, 241, n. 1, p. 199-204, Jul 2015.

SEALS, D. R.; JABLONSKI, K. L.; DONATO, A. J. Aging and vascular endothelial function in humans. **Clinical science (London, England : 1979)**, 120, n. 9, p. 357-375, 2011.

SIASOS, G.; ATHANASIOU, D.; TERZIS, G.; STASINAKI, A. *et al.* Acute effects of different types of aerobic exercise on endothelial function and arterial stiffness. **Eur J Prev Cardiol**, 23, n. 14, p. 1565-1572, Sep 2016.

SILVA, J.; MENÊSES, A. L.; PARMENTER, B. J.; RITTI-DIAS, R. M. *et al.* Effects of resistance training on endothelial function: A systematic review and meta-analysis. **Atherosclerosis**, 333, p. 91-99, Sep 2021.

STORCH, A. S.; ROCHA, H. N. M.; GARCIA, V. P.; BATISTA, G. *et al.* Oscillatory shear stress induces hemostatic imbalance in healthy men. **Thromb Res**, 170, p. 119-125, Oct 2018.

TADDEI, S.; VIRDIS, A.; MATTEI, P.; GHIADONI, L. *et al.* Aging and endothelial function in normotensive subjects and patients with essential hypertension. **Circulation**, 91, n. 7, p. 1981-1987, Apr 1 1995.

THIJSSSEN, D. H.; ATKINSON, C. L.; ONO, K.; SPRUNG, V. S. *et al.* Sympathetic nervous system activation, arterial shear rate, and flow-mediated dilation. **J Appl Physiol (1985)**, 116, n. 10, p. 1300-1307, May 15 2014.

THIJSSSEN, D. H.; DAWSON, E. A.; TINKEN, T. M.; CABLE, N. T. *et al.* Retrograde flow and shear rate acutely impair endothelial function in humans. **Hypertension**, 53, n. 6, p. 986-992, Jun 2009.

TINKEN, T. M.; THIJSSSEN, D. H.; HOPKINS, N.; BLACK, M. A. *et al.* Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. **Hypertension**, 54, n. 2, p. 278-285, Aug 2009.

TINKEN, T. M.; THIJSSSEN, D. H.; HOPKINS, N.; DAWSON, E. A. *et al.* Shear stress mediates endothelial adaptations to exercise training in humans. **Hypertension**, 55, n. 2, p. 312-318, Feb 2010.

TREMBLAY, J. C.; STIMPSON, T. V.; PYKE, K. E. Evidence of sex differences in the acute impact of oscillatory shear stress on endothelial function. **J Appl Physiol (1985)**, 126, n. 2, p. 314-321, Feb 1 2019.

VERHAGEN, A. P.; DE VET, H. C.; DE BIE, R. A.; KESSELS, A. G. *et al.* The Delphi list: a criteria list for quality assessment of randomized clinical trials for conducting systematic reviews developed by Delphi consensus. **J Clin Epidemiol**, 51, n. 12, p. 1235-1241, Dec 1998.

WANG, Z.; WANG, F.; KONG, X.; GAO, X. *et al.* Oscillatory Shear Stress Induces Oxidative Stress via TLR4 Activation in Endothelial Cells. **Mediators Inflamm**, 2019, p. 7162976, 2019.

ZIEGLER, T.; BOUZOURENE, K.; HARRISON, V. J.; BRUNNER, H. R. *et al.* Influence of oscillatory and unidirectional flow environments on the expression of endothelin and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 18, n. 5, p. 686-692, May 1998.

## 2 ESTUDO DE PROTOCOLO

**Title:** Acute effects of physical exercise with different levels of blood flow restriction on vascular reactivity and biomarkers of muscle hypertrophy, endothelial function and oxidative stress in young and elderly subjects – A randomized controlled protocol

Artigo publicado no periódico Contemporary Clinical Trials Communications.

**Authors:** Gustavo Gonçalves Cardozo,<sup>a,b</sup> Karynne Grutter Lopes,<sup>b,c,d</sup> Daniel Alexandre Bottino,<sup>c,d</sup> Maria das Graças Coelho de Souza,<sup>c,d</sup> Eliete Bouskela,<sup>c,d</sup> Paulo Farinatti,<sup>a,b,e</sup> and Ricardo Brandão de Oliveira<sup>a,f,\*</sup>

**Affiliation:** <sup>a</sup> Graduate Program in Exercise and Sport Sciences, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>b</sup> Laboratory of Physical Activity and Health Promotion, Institute of Physical Education and Sports, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>c</sup> Graduate Program in Clinical and Experimental Physiopathology, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>d</sup> Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>e</sup> Graduate Program in Physical Activity Sciences, Salgado de Oliveira University, Niteroi, Brazil; <sup>f</sup> Laboratory of Active Living - Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

Corresponding author. Ricardo Brandão de Oliveira, PhD. Graduate Program in Exercise and Sport Sciences, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier, 524 – Bloco F 9122, CEP 20550-900, Brazil. E-mail [ricardo.oliveira@uerj.br](mailto:ricardo.oliveira@uerj.br).

Received 2020 Jul 13; Revised 2020 Nov 15; Accepted 2021 Feb 4.

**Abstract**

**Background:** Gains in muscle mass and strength have been documented in exercise training with blood flow restriction (BFR). However, the impact of retrograde blood flow during BFR training on vascular health remains unclear. The present study designed a protocol to evaluate the acute effects of exercise performed with different levels of BFR on vascular reactivity and biomarkers of endothelial function, oxidative stress, and muscle hypertrophy in young and older individuals. **Methods and study design:** Sixty-eight physically inactive eutrophic men [34 young (18–25-yrs old) and 34 elderly ( $\geq 65$ -yrs old)] will be included in the study. Subjects will undergo three experimental protocols: a) control (ExCON) – handgrip exercise with intensity of 30% of the maximum voluntary contraction (MVC); b) blood flow restriction (ExBFR) – handgrip exercise with a resistance of 30% of the MVC with low level of BFR [80% of arterial occlusion pressure at rest (rAOP)]; and c) arterial occlusion pressure (ExAOP) – handgrip exercise with a resistance of 30% of the MVC with high level of BFR (120% of rAOP). Primary outcomes will be: a) vascular reactivity assessed by venous occlusion plethysmography; b) endothelial function (nitric oxide and apoptotic endothelial micro particles; c) oxidative stress (thiobarbituric acid reactive substances). Growth hormone and lactate concentration will be measured as secondary outcomes reflecting the hypertrophic drive and metabolic stress, respectively. **Discussion:** The findings of the present study may help to elucidate the age-related impacts of BFR training on the vascular health.

**Keywords:** Aging, Muscle mass, Muscle strength, Blood pressure, Health

**Trial registration:** This trial is registered in the Thai Clinical Trials Registry office (registration number: TCTR20191219002, date of registration: December 17, 2019).

## Introduction

Prior research has shown that exercise with loads corresponding to 20–40% of maximal strength combined with blood flow restriction (BFR) is capable to promote increases in skeletal muscle mass and strength, even when compared to high intensity strength exercises(CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019; LIXANDRÃO; UGRINOWITSCH; BERTON; VECHIN *et al.*, 2018) . The results of these studies also suggest that different levels of BFR can promote positive muscle hypertrophy and strength adaptations in older adults, suggesting that this type of intervention may be a training alternative for individuals who are not tolerant to high intensity exercise protocols(LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019).

Although potentially relevant due to its clinical applications in the elderly within preventive or rehabilitation settings(CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019; HUGHES; PATON; ROSENBLATT; GISSANE *et al.*, 2017; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019) , few studies have evaluated the effects of this mode of intervention on the vascular health(CREDEUR; HOLLIS; WELSCH, 2010; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2015). Moreover, studies with different age groups produced conflicting results. In young individuals, BFR training seems to compromise the vascular function due to retrograde flow, with increased endothelial cell apoptosis eliciting pro-inflammatory and pro-atherogenic endothelial phenotype(JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013) or reductions in flow-mediated dilation(CREDEUR; HOLLIS; WELSCH, 2010; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009) . In contrast, some prior studies reported unaltered(YASUDA; FUKUMURA; FUKUDA; UCHIDA *et al.*, 2014) and even improved (SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2015; SHIMIZU, RYOSUKE; HOTTA, KAZUKI;

YAMAMOTO, SHUHEI; MATSUMOTO, TAKUYA *et al.*, 2016) endothelial function in the elderly.

In brief, data from studies investigating the age-related effects of exercise performed with BFR on endothelial function are limited and mixed. The wide methodological variability, particularly in which concerns the mechanical restriction of blood flow makes difficult to compare results among trials. The optimal level of BFR to produce gains in muscle mass and strength, while avoiding adverse effects in endothelial function in young and older individuals remains undefined. In addition, although recent evidence suggested that low-intensity RT with different levels of BFR may be effective to induce hypertrophy (FRY; GLYNN; DRUMMOND; TIMMERMAN *et al.*, 2010; KIM; LANG; PILANIA; FRANKE, 2017; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019; TAKARADA; TAKAZAWA; SATO; TAKEBAYASHI *et al.*, 2000), age-related dose-response relationships regarding the level of BFR occlusion *vs.* adaptations in muscle function and endothelial dysfunction have not been clearly established.

Given the exposed, the present study intends to investigate the acute effects of physical exercise performed with different levels of BFR on the vascular reactivity of young and old men. In addition, potential mechanisms of muscular and vascular responses across the age groups will be analyzed through biomarkers of muscle hypertrophy, endothelial function, and oxidative stress. We will test the hypothesis that a session of physical exercise performed with different levels of BFR would be able to increase the blood concentration of markers related to hypertrophic and strength gains, while preserving the vascular function in both young and older individuals.



## **Methods/design**

### **Study design**

This randomized controlled trial will be conducted at the Laboratory of Physical Activity and Health Promotion (LABSAU) and Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology (BIOVASC), both located in the University of Rio de Janeiro State (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil. It has been registered at Thai Clinical Trials Registry (registration number: TCTR20191219002, date of registration: December 17, 2019) and approved by local Ethics Committee (CAAE: 69072916.8.0000.5282, opinion number 2.166.110, approved in July 10, 2017).

The participants will receive oral and written instructions about study risks and benefits and will be included in the study only after giving their written informed consent. The present study protocol complies with standards of the SPIRIT 2013 checklist (Standard Protocol Items: Recommendations for International Trials)(SPIRIT 2013 Statement: Defining Standard Protocol Items for Clinical Trials, 2013).

### **Eligibility criteria**

Two groups of physically inactive men will enroll in the study, 34 aged 18 to 25-yrs and 34 aged  $\geq 65$ -yrs. Exclusion criteria include: smoking; mini-mental state exam score  $\leq 13$  points (only for the elderly); cardiovascular and metabolic disease; muscle skeletal disorders precluding handgrip exercise; and use of any medication interfering with the outcomes of the study or cardiovascular responses during exercise.

### **Recruitment of participants**

Recruitment of volunteers will be carried out by the LABSAU and BIOVASC through institutional media and social networks from October 2019 to November 2020.

### **Sample size and randomization**

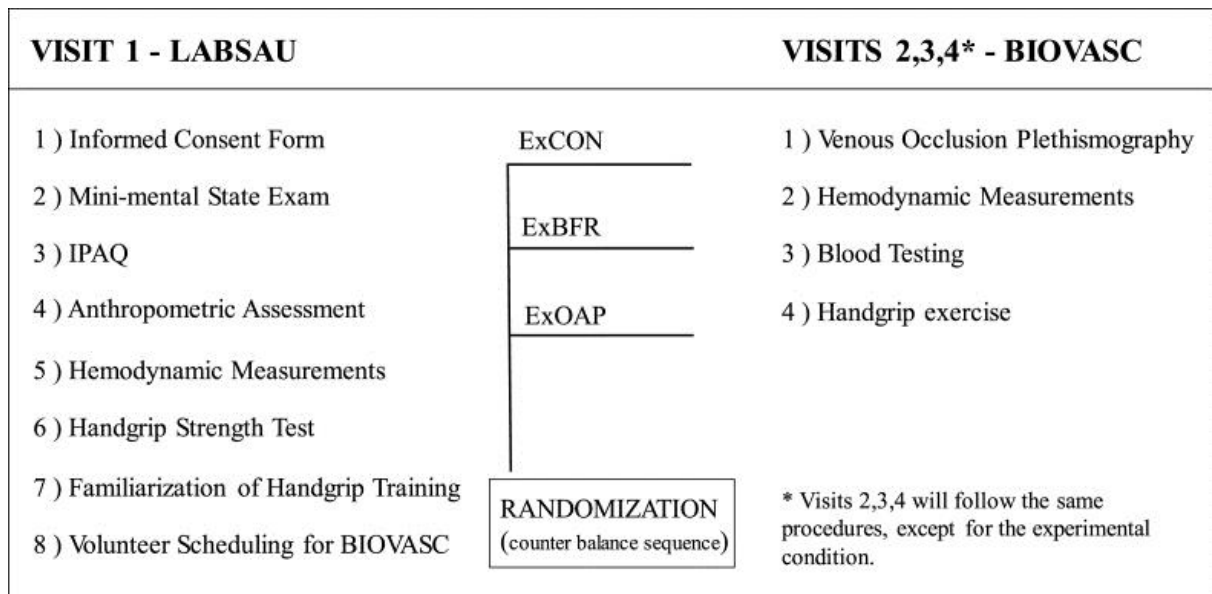
The statistical power was calculated using the G\*Power 3.1.9.4 (Universität Kiel, Kiel, Germany), considering the following parameters: a) statistical test: ANOVA – fixed effects (main effects and interactions); b) type of sample size: a priori; c) effect size  $f = 0.1$ ; d)  $\alpha$  err prob. = 0.05; e) sample power of 0.80; f) number of groups = 2; g) number of measurements (3 (experimentals) x 3 (measurements)) = 9, resulting in a total sample size of 68 individuals.

All participants will undergo the following experimental conditions, in a counter-balanced random order: a) ExCON – handgrip exercise with load corresponding to 30% of maximum voluntary contraction (MVC) without BFR; b) ExBFR – handgrip exercise with resistance of 30% of MVC and low-level BFR. In this protocol, vascular occlusion will be promoted by inflating an automatic pressure cuff to 80% of resting arterial occlusion pressure (rAOP); c) ExAOP – handgrip exercise with resistance of 30% of MVC and high-level BFR. In this condition, the automatic pressure cuff will be inflated up to 120% of rAOP.

### **Experimental design and sessions**

The Fig. 1 depicts the overall study design, while Fig. 2 details the procedures applied in the experimental conditions (ExCON, ExBFR, and ExAOP). The participants will be instructed to fast for 8 h (for visit 2, 3 and 4), and to avoid alcohol or caffeinated beverages 24 h prior to experimental sessions. Visits 2, 3 and 4 will be interspersed by one week, all in the same time and conditions.

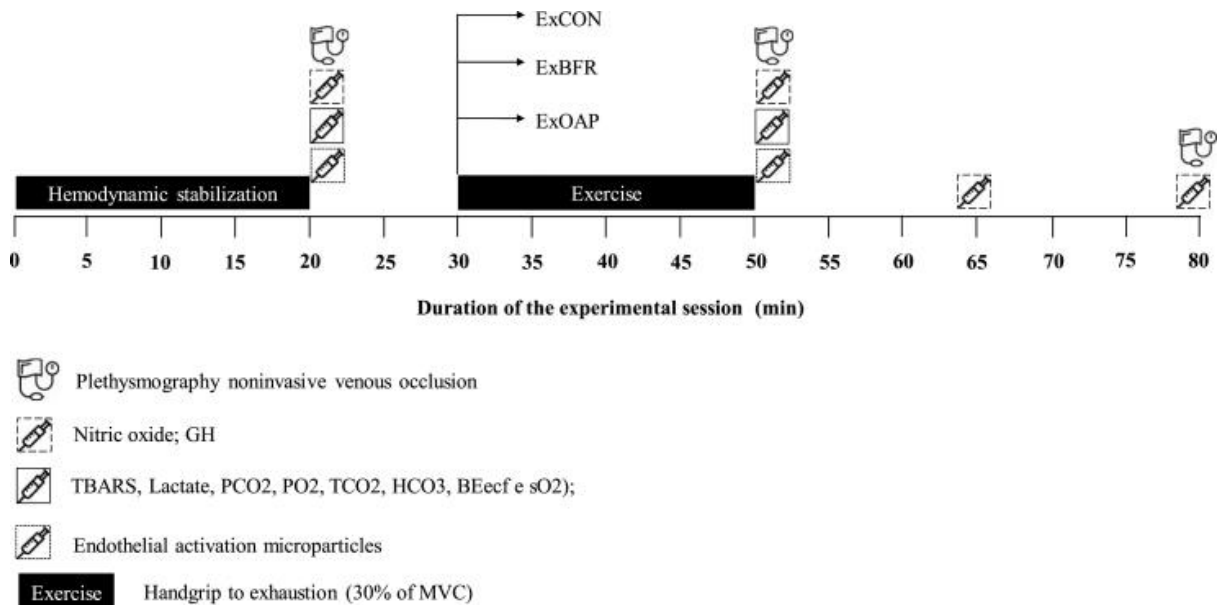
Figure 1. Flowchart of the experimental design



ExCON – Control group; ExBFR – Blood flow restriction group; ExAOP – Arterial occlusion pressure; IPAQ – International physical activity questionnaires; LABSAU – Laboratory of Physical Activity and Health Promotion; BIOVASC – Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology.

Fonte: CARDOZO, GG (2023)

Figure 2. Experimental sessions.



ExCON – Control group; ExBFR – Blood flow restriction group; ExAOP – Arterial occlusion pressure; GH – Growth Hormone; TBARS – Thiobarbituric acid reactive substances; PCO<sub>2</sub> – Carbonic gas pressure; PO<sub>2</sub> – Oxygen gas pressure; TCO<sub>2</sub> – Total carbon dioxide; HCO<sub>3</sub> – bicarbonate; BEecf – Base excess of the extracellular fluid; sO<sub>2</sub> – saturation of oxygen; MVC – maximal voluntary contraction; \*: The duration of the exercise will vary according to the time to exhaustion of volunteer in each protocol.

Fonte: CARDOZO, GG (2023)

### Handgrip exercise

Prior to experimental sessions, a familiarization session with the handgrip exercise will be allowed. Three sets of 30-s contractions with load corresponding to 30% of MVC will be performed every 2 s. A computer screen will be used to allow individuals to control the contraction intensity and cadence.

The acute handgrip exercise (Hand Dynamometer TSD121C, Biopac™ Systems Inc., Holliston, MA, USA) will be performed in the supine position with arms along the body and elbows extended until volitional fatigue. The load and cadence will be of 30% of MVC and 30

contractions per min (one contraction every 2 s), respectively. A notebook screen with 17.3 inches (DELL Inspiron, Round Rock, Texas, USA) will help participants to keep constant the intensity and cadence of contractions.

The upper left arm will be positioned beside the trunk at heart level and comfortably supported on a platform, with a cuff placed on the proximal third of the arm (Hokanson™, Bellevue, WA, USA). Cuff pressures will be set at 0%, 80% and 120% of rAOP, depending on the experimental condition. Perceived effort will be assessed every 30 s using the 10-point Borg scale [16]. The transducer (10 MHz) of a portable vascular Doppler (model DV 610B, Medmega™, Franca, SP, Brazil) positioned on the medial biceps will be used to confirm vascular occlusion during the BFR protocol.

### **Blood flow restriction**

The BFR and AOP will be applied using a nylon cuff size (11 × 85 cm) connected to a pneumatic cuff inflator (Hokanson™ TD312, Bellevue, WA, USA) placed over the left arm and inflated to 80 or 120% of rAOP (in ExBFR or ExAOP, respectively). The occlusion will comply to the latest recommendation regarding the procedure (PATTERSON; HUGHES; WARMINGTON; BURR *et al.*, 2019). The duration of BFR will be monitored per exercise protocol (ExAOP and ExBFR), and the pressure will be maintained throughout the whole exercise.

### **Potential harms**

The participants presenting any clinical complication during the experiment will be conducted to the University Hospital. Adverse clinical events will be evaluated by the research team to determine severity. Serious events will be reported to ethic committee to take appropriate action. In the case of harm resulting from the management, design or conduct of the research, University insurance policies will apply.

**Withdrawals**

Volunteers can leave study at any time without providing a reason, and may choose to remove their collected data. Participants will be considered to be withdrawn if they request to leave the trial or are lost to follow-up (absence in one of the experimental sessions). Only data from participants who complete all the experimental sessions (visits 2, 3 and 4) and baseline assessment (visit 1) will be included in analysis.

**Dissemination policy**

The results of the study will be publicized in scientific congresses and journals. Data (unnamed) will be deposited in an appropriate data archive for sharing purposes. All personal data will be confidentially stored in folders by the main investigator and will not be shared to any third party without consent from the participants.

**Data collection and accessibility**

The research results, outcomes, and forms related to data collection will be available in the cloud (Dropbox) and can be consulted after permission granted by the main investigator. Data from participants who discontinue the intervention protocol will also be accessible.

**Primary, secondary and other outcome measures and description of assessment instruments**

The primary outcomes will be: a) vascular reactivity reflected by forearm blood flow assessed through venous occlusion plethysmography; b) biochemical markers of endothelial function (nitric oxide; NO and apoptotic endothelial microparticles; EMP) and oxidative stress (thiobarbituric acid reactive substances; TBARS). As secondary outcomes, growth hormone and lactate will be also measured as surrogates of muscle responses and local metabolic milieu. Further outcomes will be maximum strength measured by handgrip test,

anthropometry (including body mass, height and body mass index calculation). The blood pressure at rest will also be measured, being used to determine BFR and AOP.

### ***Primary outcomes***

#### ***Vascular reactivity***

Vascular reactivity will be evaluated by venous occlusion plethysmography (Hokanson™ AI6, Bellevue, WA, USA), as previously described (BOTTINO; LOPES; DE OLIVEIRA; MECENAS *et al.*, 2015). Four measurements will be performed: a) forearm blood flow (FBF) at baseline 1; b) peak FBF during reactive hyperemia, after 5 min of forearm arterial occlusion with pressure 50 mmHg above systolic blood pressure; c) FBF at baseline 2; and d) peak FBF after 5 min of 0.4 mg sublingual nitroglycerin administration (Nitrolingual Burns Adler Pharmaceuticals™ Inc, Charlotte, NC, USA). FBF will be measured for 2 min at each stage in ml/min/100 mL tissue. Each phase will be performed interspersed with 3-min intervals, except between reactive hyperemia and baseline 2, when a 15-min interval will be allowed. Also, relative increments in FBF will be calculated: % Hyper =  $\frac{\text{peak FBF in hyperemia}}{\text{FBF baseline 1}}$  and % Nitro =  $\frac{\text{peak FBF nitroglycerin}}{\text{FBF baseline 2}}$ .

#### ***Blood analysis***

Blood samples will be harvested before exercise, immediately after, 15 min and 30 min postexercise. Data pre *vs.* immediately after will be used to estimate changes in metabolic stress (lactate), oxidative stress (TBARS), and endothelial function (CHENG; TEMPEL; VAN HAPEREN; VAN DER BAAN *et al.*). Samples taken before exercise, immediately after, and following 15 min and 30 min postexercise will be used as markers of potential drive for muscle hypertrophy (GH) and endothelial function (NO).

The blood samples (100  $\mu$ L of deproteinized serum) will be plated in 96-well microplates, and 100  $\mu$ L of saturated solution of Vanadium (III) chloride (VCl<sub>3</sub>, Sigma-

Aldrich, Saint Louis, MO, USA) at 8 mg/mL of 1 M HCl will be added. NO production will be measured by assaying for nitrite using the Griess method (GREEN; WAGNER; GLOGOWSKI; SKIPPER *et al.*, 1982). The two solutions of Griess reagent, Naftiletlenodiamine (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) at 0.1% in 5% phosphoric acid and p-sulfonamine aminobenzen (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) at 1% in 5% phosphoric acid (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) will be mixed at a ratio of 1:1 immediately prior to usage, after which 100  $\mu$ L will be added to each sample; the samples will be then incubated for 15 min in the absence of light at room temperature. Next, the samples will be measured on a microplate reader (ELX 800, Bio Tek, Winooski, VT, USA) at 570 nm. NO will be calculated using a standard curve derived from solutions of sodium nitrite in the range of 10–200  $\mu$ M (STUEHR; MARLETTA, 1985).

The number of EMP released from endothelial apoptosis (CHENG; TEMPEL; VAN HAPEREN; VAN DER BAAN *et al.*) will be determined by flow cytometry (Accuri C6 Plus, BD Biosciences, San Jose, CA, USA), as previously demonstrated (ROCHA; GARCIA; BATISTA; SILVA *et al.*, 2018). Briefly, 100  $\mu$ L of platelet poor plasma will be incubated with 8  $\mu$ L of anti-CD31-Alexa 647 (BD Biosciences; Franklin Lakes, NJ, USA), 8  $\mu$ L of anti-CD41a BB515 (BD Biosciences; Franklin Lakes, NJ, USA) monoclonal antibodies and 5  $\mu$ L of Annexin V-PERCP-CY5.5 (BD Biosciences; Franklin Lakes, NJ, USA) for 30 min in the dark at 4 °C. Prior to flow cytometry analysis, each sample will be diluted with 900  $\mu$ L of PBS. Microparticles CD41-/CD31+/Annexin V+ with diameter inferior than 1.1  $\mu$ m. We will be consider apoptotic EMP.

The lipid peroxidation reflected by TBARS will be assessed as previously described (KELES; TAYSI; SEN; AKSOY *et al.*, 2001). Before and immediately after the exercise sessions, the blood will be collected into tubes with EDTA. It will be centrifuged for 10 min at 1000 and the plasma will be isolated to perform an assay for lipid peroxidation. The plasma



(50  $\mu$ L) will be mixed with 200  $\mu$ L of 10% trichloroacetic acid (TCA, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) and 150  $\mu$ L of potassium phosphate buffer (100 mM, pH 7.4) and incubated at room temperature for 10 min before centrifugation (2000  $\times$  g for 15 min). The supernatant will be collected and then, 500  $\mu$ L of thiobarbituric acid (0.67%) will be added followed by an additional incubation at 95  $^{\circ}$ C for 60 min. The samples will be then cooled for 5 min and homogenized. Finally, the absorbance will be measured at 532 nm in a microplate reader, TP reader Thermo Plate. The MDA (malondialdehyde) concentrations will be evaluated using 1,1,3,3-Tetramethoxypropane (TMP, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) standard curve. The human plasma will be collected from the donor volunteers and stored at – 80  $^{\circ}$ C until analysis. For deproteinization, samples of 500  $\mu$ L from each plasma sample will be centrifuged at 40,000 g during 1.5 h (4  $^{\circ}$ C) through a 30-kDa molecular weight filter (Amicon, Merck<sup>TM</sup>, Darmstadt, Germany).

### ***Secondary outcomes***

#### ***Growth hormone***

Assessment of serum GH will be performed using the Human Growth Hormone Immunoassay ELISA kit (R&D Systems<sup>TM</sup>, Minneapolis, MN, USA). In short, concentration standards and samples (without prior dilution) will be added to the assay plate and during the incubation period the GH molecules will bind to specific monoclonal antibodies present at the bottom of the microplate wells. Then, a wash cycle will be performed to remove nonspecific binding and, at the end of this step, polyclonal antibodies conjugated to the peroxidase enzyme will be added to the plate, binding to the GH molecules trapped at the bottom of the plate.

Subsequently, a new wash cycle will be performed to remove nonspecific binding, and then the peroxidase enzyme substrate (hydrogen peroxide) and the chromogen (tetramethylbenzidine, TMB) will be added to the plate. At this stage, the peroxidase present

in the sample wells or concentration patterns reacts with hydrogen peroxide and the reaction product oxidizes the TMB promoting the appearance of a blue color whose intensity is directly proportional to the concentration of the conjugated enzyme and consequently of GH.

At the end of the assay the enzymatic reaction will be inhibited with the addition of a sulfuric acid solution and then the optical density of each of the 96 wells of the microplate will be measured by a Universal Microplate Reader (ELX 800, Bio Tek™, Winooski, VT, USA). The GH concentration will be determined by correlating the optical density value of the samples with the optical density values of the standard curve generated by the 4-parameter logistic adjustment with the aid of an appropriate data analysis program (KC Junior, Bio Tek™, Winooski, VT, USA).

### ***Lactate***

After deproteinization using a 10 kDa MW cut-off spin filter (Amicon Ultra 0.5 Centrifugal Filter Unit 10 kDa, Merck™, Darmstadt, Germany), serum samples will be assayed using Lactate Assay kit II (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) according instructions provided by the kit manufacturer's. In brief, 46 µl deproteinized serum samples diluted 1:10 in lactate assay buffer will be mixed with 2 µL of lactate enzyme mix and 2 µL of lactate substrate constituting 50 µL of reaction mix per well. All wells will be homogenized by pipetting and then incubated at room temperature, protected from the light, during 30 min. Next, the absorbance of samples will be measured on a microplate reader (ELX 800, Bio Tek, Winooski, VT, USA) at 450 nm. Lactate concentration will be calculated using a standard curve ranging from 2 to 10 nmole/well.

### ***Other outcomes***

#### ***. Handgrip strength***

Exercise intensity will be fixed according to by MVC achieved during handgrip contraction (Hand Dynamometer TSD121C, Biopac™ Systems Inc., Holliston, MA, USA).

Strength measurements will be performed with participants in the supine position, arms along the body, and elbows fully extended. Three MVC of 3 s will be performed interspersed with 1-min intervals. The highest value in kgf will be recorded as result.

### ***Anthropometry***

Body mass and height will be measured by means of a calibrated electronic scale (Filizola™, Sao Paulo, SP, Brazil) and wall stadiometer (Sanny™, Sao Paulo, SP, Brazil), respectively. The body mass index (BMI) will be calculated as the ratio between body mass and height squared ( $\text{kg/m}^2$ ).

### ***Resting blood pressure***

The blood pressure at rest will be measured in supine position, always in the morning (7–10 a.m.), in a controlled temperature room (22–25 °C) by semi-automated oscillometric device (LifeWindow LW6000, Digicare Biomedical Technology™, West Palm Beach, FL, USA), according to standard recommendations (PICKERING; HALL; APPEL; FALKNER *et al.*, 2005).

### **Data management**

A research assistant will be responsible for filling a form including individual primary and secondary outcomes at each timeline point. The project manager will be responsible for checking the integrity of the completed printed form. The principal investigator will be responsible for initial data cleaning, identifying, and coding, as well as for converting the data into proper format for analysis.

### **Masking and blinding**

In this study, it will not be possible to blind the participants and evaluators who will supervise the handgrip exercise sessions. On the other hand, researchers responsible for the analyses of primary and secondary outcomes, as well as for statistical calculations, will be blinded for the age-group and experimental conditions.

## Statistical analysis

Data normality will be checked by the Shapiro Wilk test and data will be presented as mean and standard deviation or percentage, whenever appropriate. To compare the variables of interest, a 3-way ANOVA will be used (age-groups, exercise protocols, and time points), followed by the Tukey-Kramer Test verifications in the event of significant  $F$  ratios. In all cases, the significance level will be set at  $P \leq 0.05$  and calculations performed using the NCSS statistical software (LLC™, Kaysville, UT, USA).

## Discussion

The BFR training is usually performed with low intensity (20–40% of repetition maximum) combined to the application of an external pressure on the upper or lower limbs through pneumatic cuff, resulting in reduction of arterial and venous blood flow(PATTERSON; HUGHES; WARMINGTON; BURR *et al.*, 2019). This method has been shown to induce substantial gains of muscle mass and strength in healthy young (LIXANDRÃO; UGRINOWITSCH; BERTON; VECHIN *et al.*, 2018) and older (CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019) adults with different clinical conditions(GUALANO; UGRINOWITSCH; NEVES; LIMA *et al.*, 2010; HUGHES; PATON; ROSENBLATT; GISSANE *et al.*, 2017; KAMBIČ; NOVAKOVIĆ; TOMAŽIN; STROJNIK *et al.*, 2019; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019). However, the influence of age on vascular effects remains unclear, with some studies reporting deleterious responses in young subjects(CREDEUR; HOLLIS; WELSCH, 2010; JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009), while others observed preserved or improved responses in the elderly(SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2015; SHIMIZU, RYOSUKE; HOTTA, KAZUKI; YAMAMOTO,

SHUHEI; MATSUMOTO, TAKUYA *et al.*, 2016; YASUDA; FUKUMURA; FUKUDA; UCHIDA *et al.*, 2014).

In the present protocol, the handgrip exercise will be used as model of resistance exercise. This type of exercise is well described in acute and chronic studies investigating the vascular responses associated with blood flow restriction (CREDEUR; HOLLIS; WELSCH, 2010; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016), with intensities similar to ours, of approximately 30% of MVC (PATTERSON; HUGHES; WARMINGTON; BURR *et al.*, 2019). Different levels of mechanical compression have been applied in BFR studies, with absolute pressures ranging from 100 to 200 mmHg (FRY; GLYNN; DRUMMOND; TIMMERMAN *et al.*, 2010; TAKARADA; NAKAMURA; ARUGA; ONDA *et al.*, 2000) or being relative to individual systolic BP (GUALANO; UGRINOWITSCH; NEVES; LIMA *et al.*, 2010; KIM; LANG; PILANIA; FRANKE, 2017; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019; TAKANO; MORITA; IIDA; ASADA *et al.*, 2005). In our study, we will apply pressures 20% above and below resting BP, as we understand that these levels are sufficient to engender relative vascular restriction effects with different magnitudes of retrograde blood flow. In addition, these selected levels of BFR have not been described in the literature as uncomfortable or painful.

As above mentioned, although muscle benefits seem to result from BFR training, the relationship between the level of cuff pressure to induce muscle gains *vs.* vascular health may be different across age groups (DA CUNHA NASCIMENTO; SCHOENFELD; PRESTES, 2020). To address this question, our study was designed to compare the after-effects of low-intensity resistance exercise performed with different levels of blood restriction or AOP (ExBFR or ExAOP protocols, respectively) on the vascular reactivity of young and older adults. We expect that markers of vascular function will remain unaltered, while the

hypertrophic drive reflected by GH production will occur irrespective of the exercise intensity and level of BFR.

The outcomes will be assessed through venous occlusion plethysmography and biomarkers of endothelial function (NO and EMP), oxidative stress (TBARS), and muscle hypertrophy (GH). The venous occlusion plethysmography is extensively used to measure the vasodilation response during reactive hyperemia after 5-min arterial occlusion (reflected by higher endothelial dependent vasodilatation), and the integrity of smooth muscle cells (reflected by endothelial independent vasodilatation) in young and older individuals(BOTTINO; LOPES; DE OLIVEIRA; MECENAS *et al.*, 2015), as well as in response to physical exercise(LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019). The blood biomarkers of endothelial function and oxidative stress are acknowledged to explain changes in vascular physiological mechanisms(DEMINICE; SICCHIERI; MIALICH; MILANI *et al.*, 2011; SHIMIZU, RYOSUKE; HOTTA, KAZUKI; YAMAMOTO, SHUHEI; MATSUMOTO, TAKUYA *et al.*, 2016; VION; RAMKHELAWON; LOYER; CHIRONI *et al.*, 2013).

The GH will be measured as a surrogate of sufficient muscle stimulus capable to promote muscular gains, as a secondary outcome of the study. Albeit the focus of this trial is to investigate the effects of BFR training on vascular health, this information will allow to verify whether or not the selected levels of restriction are capable to stimulate hypertrophic responses. Additionally, the lactate concentration reflects local hypoxia and muscle metabolic milieu(TAKARADA; NAKAMURA; ARUGA; ONDA *et al.*, 2000), and the assessment of this outcome will help to ensure that exercise sessions were similar in terms of metabolic stress.

All measurements will be performed before (baseline), immediately after, 15 min and 30 min after exercise, as literature has shown these moments would be appropriate to assess

the dependent variables of interest (DEMINICE; SICCHIERI; MIALICH; MILANI *et al.*, 2011; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; TAKARADA; NAKAMURA; ARUGA; ONDA *et al.*, 2000; VION; RAMKHELAWON; LOYER; CHIRONI *et al.*, 2013). The presence or absence of blood flow during the ExAOP and ExBFR protocols (interruption and maintenance of the auscultatory pulse of the brachial artery) will be controlled by a vascular Doppler. This strategy will assure that ExAPO and ExBRF provokes different blood flow patterns (GUALANO; NEVES; LIMA; PINTO *et al.*, 2010).

Our protocol has some limitations. Firstly, it is difficult to monitor sleep and diet of participants during the study. Although participants will be required to record their daily routines, this is perhaps not sufficient to control for potential confounding variables influenced by sleep and nutrition patterns, such as sympathetic drive and basal levels of inflammation. Moreover, it will be impossible to blind participants and evaluators for the type of exercise intervention. However, we will ensure that data managers and statisticians are not aware of treatment allocations. Finally, we will not be able to directly measure the blood flow. This would be useful to verify the magnitude of retrograde blood flow.

The findings of this study will be novel and might contribute with the current knowledge, by expanding the discussion about the effectiveness and safety of BFR training in young and older populations. Our data will possibly warrant further studies testing different combinations of load and occlusion within BFR training in populations with poor capacity to exercise with intense loads.

### **Trial status**

Actively recruiting. Start date: November 2019. Expected completion date: November 2020.

**Declaration of competing interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

**Abbreviations**

BFR: blood flow restriction; MVC: maximum voluntary contraction; rAOP: Arterial Occlusion Pressure at rest; CON: control; AOP: arterial occlusion pressure; mTOR: mammalian target of rapamycin; CSA: cross-sectional area; RT: resistance training; FMD: flow mediated dilatation; LABSAU: Laboratory of Physical Activity and Health Promotion; BIOVASC: Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology; UERJ: Rio de Janeiro State University; HUPE: Pedro Ernesto Hospital; UNATI: University of the Third Age; BMI: body mass index; NO: nitric oxide; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; GH: growth hormone; EMP: apoptotic endothelial microparticles.

**Author contributions statement**

All authors will contribute to the data analyses and interpretation, drafting and revising the final version of manuscript. The study design was made by GGC, KGL and RBO and discussed with all authors. GGC, KGL, PF, DAB, MGCS and RBO reviewed the versions of this study protocol. The principal investigator will be RBO. The project administration and supervision will be performed by RBO and DAB. The laboratories (BIOVASC and LABSAU) where the study will occur are coordinated by EB and PF, respectively.

**Sponsor**

The project will be supported by grants from the Carlos Chagas Filho Foundation for the Research Support in the State of Rio de Janeiro (FAPERJ, processes E-26/010.002490/2016, recipient DAB and E-26/110.184/2013, recipient PF), and National Council for the Technological and Scientific Development (CNPq, process 304798/2016-9, recipient PF). These agencies do not play any role in the design of the study, data collection, analysis, or



interpretation, and manuscript writing. FAPERJ and CNPq require to be mentioned as sponsors in any intellectual production resulting from their support, not imposing other requirements.

### **Ethics approval and consent to participate**

The Ethical Board of the University of Rio de Janeiro State approved this study (CAAE: 69072916.8.0000.5282). Informed consent will be obtained from all participants.

### **Conflict of interest statement**

The authors declare that the research is conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be considered a potential conflict of interest.

### **REFERENCES**

- BOTTINO, D. A.; LOPES, F. G.; DE OLIVEIRA, F. J.; MECENAS, A. D. S. *et al.* Relationship between biomarkers of inflammation, oxidative stress and endothelial/microcirculatory function in successful aging versus healthy youth: a transversal study. **BMC Geriatrics**, 15, n. 1, p. 41, 2015/04/08 2015.
- CENTNER, C.; WIEGEL, P.; GOLLHOFER, A.; KONIG, D. Effects of Blood Flow Restriction Training on Muscular Strength and Hypertrophy in Older Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, 49, n. 1, p. 95-108, Jan 2019.
- CHENG, C.; TEMPEL, D.; VAN HAPEREN, R.; VAN DER BAAN, A. *et al.* Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress. **Circulation**, 113, n. 23, p. 2744-2753, Jun 13 2006.
- CREDEUR, D. P.; HOLLIS, B. C.; WELSCH, M. A. Effects of handgrip training with venous restriction on brachial artery vasodilation. **Med Sci Sports Exerc**, 42, n. 7, p. 1296-1302, Jul 2010.
- DA CUNHA NASCIMENTO, D.; SCHOENFELD, B. J.; PRESTES, J. Potential Implications of Blood Flow Restriction Exercise on Vascular Health: A Brief Review. **Sports Med**, 50, n. 1, p. 73-81, Jan 2020.
- DEMINICE, R.; SICCHIERI, T.; MIALICH, M. S.; MILANI, F. *et al.* Oxidative stress biomarker responses to an acute session of hypertrophy-resistance traditional interval training and circuit training. **J Strength Cond Res**, 25, n. 3, p. 798-804, Mar 2011.
- FRY, C. S.; GLYNN, E. L.; DRUMMOND, M. J.; TIMMERMAN, K. L. *et al.* Blood flow restriction exercise stimulates mTORC1 signaling and muscle protein synthesis in older men. **J Appl Physiol (1985)**, 108, n. 5, p. 1199-1209, May 2010.

GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L. *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. **Anal Biochem**, 126, n. 1, p. 131-138, Oct 1982.

GUALANO, B.; NEVES, M., JR.; LIMA, F. R.; PINTO, A. L. *et al.* Resistance training with vascular occlusion in inclusion body myositis: a case study. **Med Sci Sports Exerc**, 42, n. 2, p. 250-254, Feb 2010.

GUALANO, B.; UGRINOWITSCH, C.; NEVES, M., JR.; LIMA, F. R. *et al.* Vascular occlusion training for inclusion body myositis: a novel therapeutic approach. **J Vis Exp**, n. 40, Jun 5 2010.

HUGHES, L.; PATON, B.; ROSENBLATT, B.; GISSANE, C. *et al.* Blood flow restriction training in clinical musculoskeletal rehabilitation: a systematic review and meta-analysis. **Br J Sports Med**, 51, n. 13, p. 1003-1011, Jul 2017.

JENKINS, N. T.; PADILLA, J.; BOYLE, L. J.; CREDEUR, D. P. *et al.* Disturbed blood flow acutely induces activation and apoptosis of the human vascular endothelium. **Hypertension**, 61, n. 3, p. 615-621, Mar 2013.

KAMBIČ, T.; NOVAKOVIĆ, M.; TOMAŽIN, K.; STROJNIK, V. *et al.* Blood Flow Restriction Resistance Exercise Improves Muscle Strength and Hemodynamics, but Not Vascular Function in Coronary Artery Disease Patients: A Pilot Randomized Controlled Trial. **Front Physiol**, 10, p. 656, 2019.

KELES, M. S.; TAYSI, S.; SEN, N.; AKSOY, H. *et al.* Effect of corticosteroid therapy on serum and CSF malondialdehyde and antioxidant proteins in multiple sclerosis. **Can J Neurol Sci**, 28, n. 2, p. 141-143, May 2001.

KIM, J.; LANG, J. A.; PILANIA, N.; FRANKE, W. D. Effects of blood flow restricted exercise training on muscular strength and blood flow in older adults. **Experimental Gerontology**, 99, p. 127-132, 2017/12/01/ 2017.

LIXANDRÃO, M. E.; UGRINOWITSCH, C.; BERTON, R.; VECHIN, F. C. *et al.* Magnitude of Muscle Strength and Mass Adaptations Between High-Load Resistance Training Versus Low-Load Resistance Training Associated with Blood-Flow Restriction: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, 48, n. 2, p. 361-378, Feb 2018.

LOPES, K. G.; BOTTINO, D. A.; FARINATTI, P.; DE SOUZA, M. *et al.* Strength training with blood flow restriction - a novel therapeutic approach for older adults with sarcopenia? A case report. **Clin Interv Aging**, 14, p. 1461-1469, 2019.

PAIVA, F. M.; VIANNA, L. C.; FERNANDES, I. A.; NÓBREGA, A. C. *et al.* Effects of disturbed blood flow during exercise on endothelial function: a time course analysis. **Braz J Med Biol Res**, 49, n. 4, p. e5100, 2016.

PATTERSON, S. D.; HUGHES, L.; WARMINGTON, S.; BURR, J. *et al.* Blood Flow Restriction Exercise: Considerations of Methodology, Application, and Safety. **Front Physiol**, 10, p. 533, 2019.

PICKERING, T. G.; HALL, J. E.; APPEL, L. J.; FALKNER, B. E. *et al.* Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. **Circulation**, 111, n. 5, p. 697-716, Feb 8 2005.

ROCHA, H. N. M.; GARCIA, V. P.; BATISTA, G. M. S.; SILVA, G. M. *et al.* Disturbed blood flow induces endothelial apoptosis without mobilizing repair mechanisms in hypertension. **Life Sci**, 209, p. 103-110, Sep 15 2018.

SCHREUDER, T. H.; GREEN, D. J.; HOPMAN, M. T.; THIJSSSEN, D. H. Impact of retrograde shear rate on brachial and superficial femoral artery flow-mediated dilation in older subjects. **Atherosclerosis**, 241, n. 1, p. 199-204, Jul 2015.

SHIMIZU, R.; HOTTA, K.; YAMAMOTO, S.; MATSUMOTO, T. *et al.* Low-intensity resistance training with blood flow restriction improves vascular endothelial function and peripheral blood circulation in healthy elderly people. **European Journal of Applied Physiology**, 116, n. 4, p. 749-757, 2016/04/01 2016.

SPIRIT 2013 Statement: Defining Standard Protocol Items for Clinical Trials. **Annals of Internal Medicine**, 158, n. 3, p. 200-207, 2013.

STUEHR, D. J.; MARLETTA, M. A. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 82, n. 22, p. 7738-7742, Nov 1985.

TAKANO, H.; MORITA, T.; IIDA, H.; ASADA, K. *et al.* Hemodynamic and hormonal responses to a short-term low-intensity resistance exercise with the reduction of muscle blood flow. **Eur J Appl Physiol**, 95, n. 1, p. 65-73, Sep 2005.

TAKARADA, Y.; NAKAMURA, Y.; ARUGA, S.; ONDA, T. *et al.* Rapid increase in plasma growth hormone after low-intensity resistance exercise with vascular occlusion. **J Appl Physiol (1985)**, 88, n. 1, p. 61-65, Jan 2000.

TAKARADA, Y.; TAKAZAWA, H.; SATO, Y.; TAKEBAYASHI, S. *et al.* Effects of resistance exercise combined with moderate vascular occlusion on muscular function in humans. **J Appl Physiol (1985)**, 88, n. 6, p. 2097-2106, Jun 2000.

THIJSSSEN, D. H.; DAWSON, E. A.; TINKEN, T. M.; CABLE, N. T. *et al.* Retrograde flow and shear rate acutely impair endothelial function in humans. **Hypertension**, 53, n. 6, p. 986-992, Jun 2009.

VION, A. C.; RAMKHELAWON, B.; LOYER, X.; CHIRONI, G. *et al.* Shear stress regulates endothelial microparticle release. **Circ Res**, 112, n. 10, p. 1323-1333, May 10 2013.

YASUDA, T.; FUKUMURA, K.; FUKUDA, T.; UCHIDA, Y. *et al.* Muscle size and arterial stiffness after blood flow-restricted low-intensity resistance training in older adults. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, 24, n. 5, p. 799-806, 2014.

### 3 EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO FÍSICO COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESTRIÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO NA REATIVIDADE VASCULAR DE JOVENS SAUDÁVEIS – ESTUDO CONTROLADO RANDOMIZADO

#### Introdução

Pesquisas anteriores mostraram que o exercício com cargas correspondentes a 20-40% da força máxima combinada com a restrição do fluxo sanguíneo (RFS) é capaz de promover aumentos na massa e na força muscular esquelética, mesmo quando comparado a exercícios de força de alta intensidade (CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019; LIXANDRÃO; UGRINOWITSCH; BERTON; VECHIN *et al.*, 2018). Os resultados desses estudos também sugerem que diferentes níveis de RFS podem promover hipertrofia muscular positiva e adaptações de força, sugerindo que esse tipo de intervenção pode ser uma alternativa de treinamento para indivíduos que não são tolerantes a protocolos de exercícios de alta intensidade (LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019).

Embora potencialmente relevante devido às suas aplicações clínicas em ambientes preventivos ou de reabilitação (CENTNER; WIEGEL; GOLLHOFER; KONIG, 2019; HUGHES; PATON; ROSENBLATT; GISSANE *et al.*, 2017; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019), poucos estudos avaliaram os efeitos dessa modalidade de intervenção na saúde vascular (CREDEUR; HOLLIS; WELSCH, 2010; PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2015). Em indivíduos jovens, o treinamento com RFS parece comprometer a função vascular devido ao fluxo retrógrado, com aumento da apoptose de células endoteliais provocando fenótipo endotelial pró-inflamatório e pró-aterogênico (JENKINS; PADILLA; BOYLE; CREDEUR *et al.*, 2013) ou reduções na dilatação mediada por fluxo (CREDEUR; HOLLIS; WELSCH, 2010; PAIVA; VIANNA; FERNANDES;

NÓBREGA *et al.*, 2016; THIJSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009). Em contraste, alguns estudos anteriores relataram não alterar (YASUDA; FUKUMURA; FUKUDA; UCHIDA *et al.*, 2014) e até melhorar (SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSEN, 2015; SHIMIZU, RYOSUKE; HOTTA, KAZUKI; YAMAMOTO, SHUHEI; MATSUMOTO, TAKUYA *et al.*, 2016) a função endotelial da população estudada.

A ampla variabilidade metodológica, particularmente no que diz respeito à restrição mecânica do fluxo sanguíneo, dificulta a comparação dos resultados entre os ensaios. O nível ideal de RFS para produzir ganhos de massa muscular e força, evitando efeitos adversos na função endotelial, permanece indefinido. Além disso, embora evidências recentes sugiram que o treinamento de força de baixa intensidade com diferentes níveis de RFS pode ser eficaz para induzir hipertrofia (FRY; GLYNN; DRUMMOND; TIMMERMAN *et al.*, 2010; KIM; LANG; PILANIA; FRANKE, 2017; LOPES; BOTTINO; FARINATTI; DE SOUZA *et al.*, 2019; TAKARADA; TAKAZAWA; SATO; TAKEBAYASHI *et al.*, 2000), as relações dose-resposta relacionadas ao nível de RFS *versus* adaptações na função muscular e disfunção endotelial não foram claramente estabelecidas.

Diante do exposto, o presente estudo investigou os efeitos agudos do exercício físico realizado com diferentes níveis de RFS sobre a reatividade vascular de homens jovens. Testamos a hipótese de que uma sessão de exercício físico realizada com diferentes níveis de RFS mais brandos são capazes de preservar de forma aguda a função vascular em indivíduos jovens.

## **Métodos e materiais**

### **Desenho do estudo**

Este ensaio clínico randomizado e controlado foi conduzido no Laboratório de Atividade Física e Promoção da Saúde (LABSAU) e no Laboratório de Pesquisa Clínica e Experimental em Biologia Vascular (BIOVASC), ambos localizados na Universidade do

Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brasil. Foi registrado no Thai Clinical Trials Registry (número de registro: TCTR20191219002, data de registro: 17 de dezembro de 2019) e aprovado pelo Comitê de Ética local (CAAE: 69072916.8.0000.5282, parecer número 2.166.110, aprovado em 10 de julho de 2017).

Os participantes receberam instruções orais e escritas sobre os riscos e benefícios do estudo e foram incluídos no estudo somente após o consentimento informado por escrito. O protocolo de estudo está em conformidade com os padrões da lista de verificação SPIRIT 2013 (Standard Protocol Items: Recommendations for International Trials) (SPIRIT 2013 Statement: Defining Standard Protocol Items for Clinical Trials, 2013).

### **Critérios de elegibilidade**

Um grupo de homens fisicamente inativos se inscreveu no estudo, com idades entre 18 e 25 anos. Os critérios de exclusão foram: tabagismo; doença cardiovascular e metabólica; distúrbios esqueléticos musculares que impedem o exercício de preensão manual; e uso de qualquer medicação que interferisse nos resultados do estudo ou nas respostas cardiovasculares durante o exercício.

### **Recrutamento de participantes**

O recrutamento de voluntários foi realizado pelo LABSAU e BIOVASC através de meios institucionais e redes sociais até dezembro de 2022.

### **Randomização**

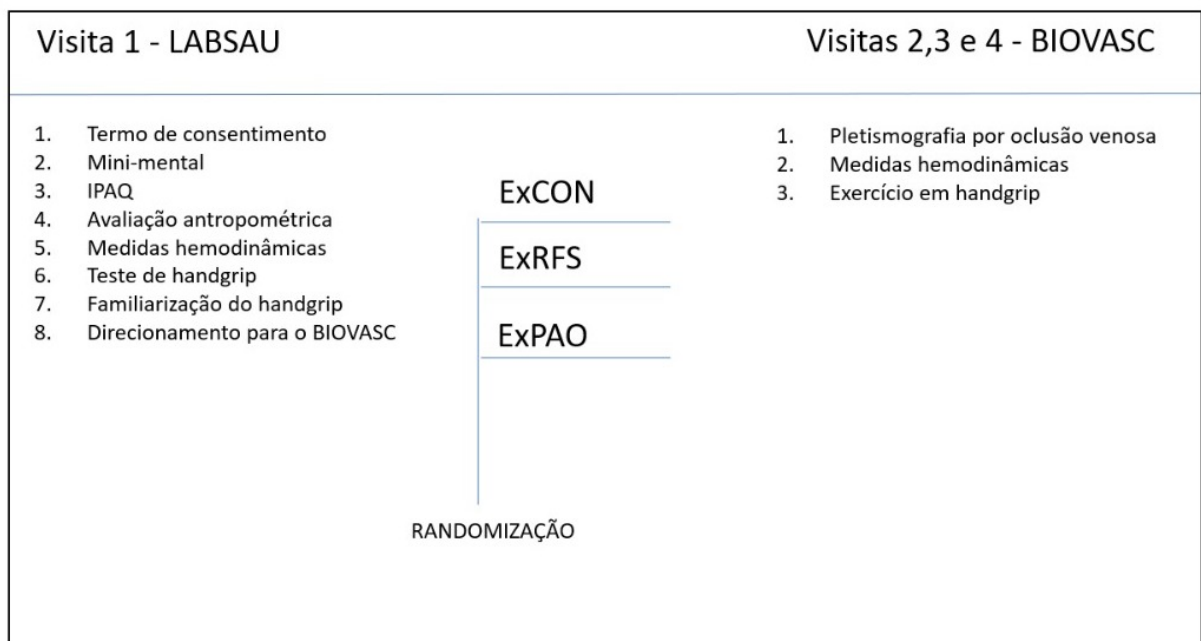
Todos os participantes foram submetidos às seguintes condições experimentais, em ordem aleatória contrabalanceada: a) ExCON – exercício de preensão manual com carga correspondente a 30% de contração voluntária máxima (CVM) sem RFS; b) ExRFS – exercício de preensão manual com resistência de 30% de CVM e RFS de baixo nível. Neste protocolo, a oclusão vascular foi promovida inflando um manguito de pressão automático a 80% da pressão de oclusão arterial de repouso (POAr); c) ExPAO – exercício de preensão

manual com resistência de 30% de CVM e RFS de alto nível. Nesta condição, o manguito de pressão automático foi inflado até 120% do POAr.

### Desenho experimental e sessões

A Fig. 1 descreve o desenho geral do estudo, enquanto a Fig. 2 detalha os procedimentos aplicados nas condições experimentais (ExCON, ExRFS e ExPAO). Os participantes foram orientados a realizar um jejum por 8 h (para a visita 2, 3 e 4) e a evitar álcool ou bebidas com cafeína 24 h antes das sessões experimentais. As visitas 2, 3 e 4 foram intercaladas por uma semana, todas no mesmo horário e condições.

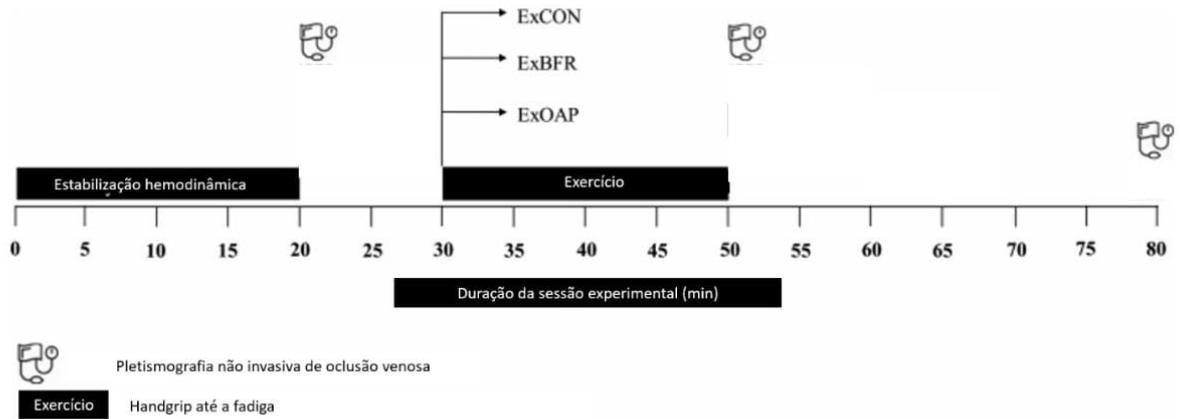
[Figura 1.](#) Fluxograma do delineamento experimental.



ExCON – Grupo controle; ExRFS – Grupo de restrição de fluxo sanguíneo; ExPAO – Pressão de oclusão arterial; IPAQ – Questionários internacionais de atividade física; LABSAU – Laboratório de Atividade Física e Promoção da Saúde; BIOVASC – Laboratório de Pesquisa Clínica e Experimental em Biologia Vascular.

Fonte: CARDOZO, GG (2023)

**Figura 2.** Sessões experimentais.



ExCON – Grupo controle; ExBFR – Grupo de restrição de fluxo sanguíneo; ExAOP – Pressão de oclusão arterial \*: A duração do exercício variou de acordo com o tempo até a fadiga do voluntário em cada protocolo.

Fonte: CARDOZO, GG (2023)

### **Exercício de prensão manual**

Antes das sessões experimentais, foi realizada uma sessão de familiarização com o exercício de prensão manual. Três séries de contrações de 30 s com carga correspondente a 30% de CVM foram realizadas a cada 2 s. Uma tela de computador foi usada para permitir que os indivíduos controlassem a intensidade e a cadência da contração.

O exercício agudo de prensão manual (Hand Dynamometer TSD121C, Biopac™ Systems Inc., Holliston, MA, EUA) foi realizado em decúbito dorsal com os braços ao longo do corpo e os cotovelos estendidos até a fadiga voluntária. A carga e a cadência foram de 30% de CVM e 30 contrações por minuto (uma contração a cada 2 s), respectivamente. Uma tela de notebook com 17,3 polegadas (DELL Inspiron, Round Rock, Texas, EUA) ajudou os participantes a manterem constante a intensidade e a cadência das contrações.



A parte superior do braço esquerdo foi posicionada ao lado do tronco ao nível do coração e confortavelmente apoiada em uma plataforma, com um manguito colocado no terço proximal do braço (Hokanson™, Bellevue, WA, EUA). As pressões do manguito foram fixadas em 0%, 80% e 120% de PAO, dependendo da condição experimental. O esforço percebido foi avaliado a cada 30 s usando a escala de Borg de 10 pontos. O transdutor (10 MHz) de um Doppler vascular portátil (modelo DV 610B, Medmega™, Franca, SP, Brasil) posicionado no bíceps medial foi utilizado para confirmar a oclusão vascular durante o protocolo RFS.

### **Restrição do fluxo sanguíneo**

A RFS e a PAO foram aplicados usando um tamanho de manguito de nylon (11 × 85 cm) conectado a um inflador pneumático de manguito (Hokanson™ TD312, Bellevue, WA, EUA) colocado sobre o braço esquerdo e inflado a 80 ou 120% de PAO (em ExRFS ou ExPAO, respectivamente). A oclusão obedeceu à última recomendação sobre o procedimento (PATTERSON; HUGHES; WARMINGTON; BURR *et al.*, 2019). A duração da RFS foi monitorada por protocolo de exercício (ExPAO e ExRFS), e a pressão foi mantida durante todo o exercício.

### **Medidas**

Os desfechos primários foram: a) reatividade vascular refletida pelo fluxo sanguíneo do antebraço avaliada por meio da pletismografia de oclusão venosa. Os outros desfechos foram a força máxima medida pelo teste de preensão manual, antropometria (incluindo massa corporal, altura e cálculo do índice de massa corporal). A pressão arterial em repouso também foi medida, sendo utilizada para determinar RFS e PAO.

### ***Desfecho primário***

#### ***Reatividade vascular***

A reatividade vascular foi avaliada por pletismografia de oclusão venosa (Hokanson™ AI6, Bellevue, WA, EUA), conforme descrito anteriormente (BOTTINO; LOPES; DE OLIVEIRA; MECENAS *et al.*, 2015) . Foram realizadas quatro medidas: a) fluxo sanguíneo do antebraço (FSA) no início; b) pico de FSA durante hiperemia reativa, após 5 min de oclusão arterial do antebraço com pressão 50 mmHg acima da pressão arterial sistólica; c) FSA no estágio 2 inicial; e d) pico de FSA após 5 min de administração de nitroglicerina sublingual de 0,4 mg (Nitrolingual Burns Adler Pharmaceuticals™ Inc, Charlotte, NC, EUA). A FSA foi medida por 2 min em cada estágio em ml/min/100 mL de tecido. Cada fase foi intercalada com intervalos de 3 minutos, exceto entre a hiperemia reativa e a linha de base 2, quando foi permitido um intervalo de 15 minutos. Além disso, os incrementos relativos no FSA foram calculados: % Hyper = pico de FSA na hiperemia ÷ FSA basal 1 e % Nitro = pico de nitroglicerina do FSA ÷ FSA basal 2.

### ***Desfechos secundários***

#### ***Resistência à preensão manual***

A intensidade do exercício será fixada de acordo com a CVM alcançada durante a contração da preensão manual (Hand Dynamometer TSD121C, Biopac™ Systems Inc., Holliston, MA, EUA). As medidas de força foram realizadas com os participantes em decúbito dorsal, braços ao longo do corpo e cotovelos totalmente estendidos. Três CVM de 3 s foram realizadas intercaladas com intervalos de 1 min. O valor mais alto em kgf foi registrado como resultado.

#### ***Antropometria***

A massa corporal e a estatura foram medidas por meio de balança eletrônica calibrada (Filizola™, São Paulo, SP, Brasil) e estadiômetro de parede (Sanny™, São Paulo, SP, Brasil),

respectivamente. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado como a razão entre a massa corporal e a estatura ao quadrado ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

### ***Pressão arterial de repouso***

A pressão arterial em repouso foi medida em decúbito dorsal, sempre pela manhã (7–10h), em sala de temperatura controlada (22–25 °C) por dispositivo oscilométrico semi-automatizado (LifeWindow LW6000, Digicare Biomedical Technology™, West Palm Beach, FL, EUA), de acordo com as recomendações padrão (PICKERING; HALL; APPEL; FALKNER *et al.*, 2005).

### **Gestão de dados**

Um assistente de pesquisa foi responsável por preencher um formulário, incluindo resultados primários e secundários individuais em cada ponto da linha do tempo. O gerente de projeto foi responsável por verificar a integridade do formulário impresso preenchido. O investigador principal foi responsável pela limpeza, identificação e codificação inicial dos dados, bem como pela conversão dos dados em formato adequado para análise.

### **Cegamento**

Neste estudo, não foi possível cegar os participantes e avaliadores que supervisionaram as sessões de exercícios de prensão manual. Por outro lado, os pesquisadores responsáveis pelas análises de desfechos primários e secundários, bem como pelos cálculos estatísticos, foram cegos para condições experimentais.

O poder estatístico foi calculada com objetivo de identificar o tamanho amostral usando G\*Power 3.1.9.4 (Universität Kiel, Kiel, Germany), considerando os seguintes parâmetros: a) Teste estatístico: ANOVA: Repeated measures, within factors.; b) tamanho amostral: a priori; c) tamanho de efeito  $f = 0.1$ ; d)  $\alpha$  err prob. = 0.05; e) poder de 0.80; f) número de grupos = 1; g) número de medidas (3 (experimentos) x 3 (medidas)) = 9, resultando no tamanho total de amostra de 18 indivíduos.

## **Análise estatística**

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro Wilk e os dados foram apresentados como média e desvio padrão ou porcentagem, sempre que apropriado. Para comparar as variáveis de interesse, foi utilizada uma ANOVA de duas entradas (protocolos de exercício e pontos de tempo), seguida das verificações do Teste de Tukey-Kramer no caso de razões  $F$  significativas. Em todos os casos, o nível de significância foi fixado em  $p \leq 0,05$  e os cálculos realizados utilizando o software estatístico NCSS (LLC™, Kaysville, UT, EUA).

## **Resultados**

Os dados demográficos, as medidas hemodinâmicas e da reatividade vascular durante as sessões experimentais (ExCON, ExRFS e ExPAO) foram extraídos e apresentados em apêndices ao final da tese, em formato de tabelas de doze indivíduos, sendo que apêndice A apresenta as características demográficas dos indivíduos, o apêndice B descreve os dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExRFS, o apêndice C descreve os dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExPAO e o apêndice D descreve os dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExCON.

Os resultados das características demográficas, dados de sessões experimentais, das medidas hemodinâmicas e de função vascular de condições experimentais são expressos na tabela 1. Os aspectos hemodinâmicos basais, expressos em FC, PAS, PAD e PAM, responderam de forma semelhante nas diferentes condições experimentais ( $p > 0,05$ ). A função vascular basal, expressa em fluxo sanguíneo de antebraço, foi semelhante nos diferentes experimentos ( $p > 0,05$ ). A duração média das sessões de exercício nos diferentes protocolos experimentais apresentou diferenças em todas as comparações ExRFS vs. ExPAO ( $P < 0,001$ ); ExRFS vs. ExCON ( $P < 0,001$ ) e ExPAO vs. ExCON ( $P < 0,001$ ).

Os resultados das medidas hemodinâmicas e da reatividade vascular antes, imediatamente após e 30 min após a sessão de exercício de acordo com as condições

experimentais estão expressos na tabela 2. O fluxo sanguíneo basal de antebraço aumenta de forma significativa nos três modelos experimentais imediatamente após ao exercício, quando comparado às suas condições pré-exercício ( $p < 0,05$ ), porém não apresentando diferenças entre os protocolos ( $p = 0,60$ ). Nos três protocolos há uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) do fluxo sanguíneo basal 30 minutos após exercício, quando comparado a condição imediata após exercício, porém não há diferença quando comparado ao fluxo sanguíneo de antebraço pré-exercício ( $p > 0,05$ ).

O fluxo sanguíneo de antebraço, após a hiperemia reativa, aumenta de forma significativa nos três modelos experimentais imediatamente após ao exercício, quando comparado às suas condições basais pré-exercício ( $p < 0,05$ ).

Quando comparado às suas condições de hiperemia pré-exercício, os protocolos ExRFS e ExCON não apresentam diferenças significativas imediatamente após ao exercício (ambos com  $p > 0,05$ ), mas há uma diminuição no valor do fluxo sanguíneo de antebraço na condição ExPAO de hiperemia reativa imediatamente após o exercício quando comparada a situação de hiperemia reativa pré-exercício ( $p < 0,05$ ).

O fluxo sanguíneo de antebraço após a hiperemia reativa não apresenta variação significativa nos três modelos experimentais 30 minutos após ao exercício, quando comparado às suas condições de hiperemia reativa pré-exercício ( $p < 0,05$ ).

O incremento percentual da hiperemia/basal apresentou reduções em todos os grupos na situação imediatamente após o exercício, quando comparado ao pré-exercício ( $p < 0,05$ ).

Em relação aos resultados da função endotélio -independente, não houve diferença entre os experimentos ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 1.** Características demográficas, dados de sessões experimentais, medidas hemodinâmicas e função vascular de condições experimentais

Variável	Amostra total	ExCON	ExBFR	ExPAO	Valor de p
Idade (anos)	21±2	21±2	21±2	21±2	–
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	22,9±2,0	22,9±2,0	22,9±2,0	22,9±2,0	–
Ensaio de resistência à preensão manual (kg)	26,9±6,5	–	–	–	–
<i>Dados da sessão experimental</i>					
30% do MVC (kgf)	8,1±2,0	–	–	–	–
80% de PAOr (mmHg)	96,1±6,1	–	–	–	–
120% de PAOr (mmHg)	144,2±9,2	–	–	–	–
Duração do exercício (min)	–	43,93±21,33	9,86±5,31* <sup>†</sup>	3,37±1,24 <sup>f</sup>	<0,001
<i>Medida hemodinâmica</i>					
Pressão arterial sistólica (mmHg)	–	118,1±9,1	120,3±9,9	121,3±10,3	0,67
Pressão arterial diastólica (mmHg)	–	68,6±6,4	69,3±8,2	70,0±11,0	0,84
Pressão arterial média (mmHg)	–	85,1±6,8	86,3±7,4	87,1±10,2	0,77
Frequência cardíaca (bpm)	–	62±11	60±9	67±12	0,27
<i>Função vascular</i>					
FSA-bas 1 (ml/min/100ml)	–	2,15 [1,48–3,43]	2,02 [1,21–2,43]	1,80 [1,61–1,89]	0,39

FSA-hiper (ml/min/100ml)	–	17,52±6,0	17.02±4.72	17.20±4.34	0.94
FSA-bas 2 (ml/min/100ml)	–	1,75±0,83	1,90±0,79	1,77±0,57	0.82
FSA-nitro (ml/min/100ml)	–	1,92±1,02	2.02±1.07	2,25±0,91	0.72

RFS, restrição do fluxo sanguíneo; ExCON, grupo controle; ExRFS, Grupo de restrição de fluxo sanguíneo; ExPAO, Grupo de Pressão de oclusão arterial; CVM, contração voluntária máxima; PAOr, pressão de oclusão arterial em repouso; FSA, Fluxo sanguíneo do antebraço; FSA-bas 1, FSA no fluxo basal 1; FSA-hiper, FSA durante hiperemia reativa; FSA-bas 2, FSA no fluxo basal 2; FSA-nitro, FSA após administração sublingual de nitroglicerina. *Valores* de p da ANOVA de uma entrada. Resultados expressos em média±desvio padrão ou mediana [percentis 25–75].

\*: diferença significativa ExRFS vs. ExPAO ( $P < 0,001$ );

†: diferença significativa ExRFS vs. ExCON ( $P < 0,001$ );

f: diferença significativa ExPAO vs. ExCON ( $P < 0,001$ );

Fonte: CARDOZO, GG, 2023.

**Tabela 2.** Medida hemodinâmica e reatividade vascular antes e após 0 e 30 min de sessão de exercício de acordo com as condições experimentais

	Referência	Depois		Protocolos de exercício	Valores de p	
		0 min	30 min		Efeito tempo	Interação
PAM-bas 1 (mmHg)						
ExCON	85,1±6,8	86,8±6,1	86,0±7,3	0.89	0.08	0.65
ExRFS	86,3±7,4	86,5±8,4	85,1±8,5			
ExPAO	87,1±10,2	89,1±10,2	85,9±8,7			
FC-bas 1 (bpm)						
ExCON	62±11	67±12	63±11	0,42	0,03	0,64
ExRFS	60±9	63±9	62±10			
ExPAO	67±12	69±15	65±9			
PAM-hiper (mmHg)						
ExCON	85,0±6,5	87,6±7,2	89,8 [85,5–94,7]	0.90	0.27	0.52
ExRFS	85,9±9,9	84,8±8,7	86,5 [83,5–89,5]			
ExPAO	84,4±11,3	87,1±8,2	85,7 [80,0–96,7]			
FC-hiper (bpm)						
ExCON	61±11	66±12	63±12	0.36	0.68	0.18
ExRFS	60±10	61±9	61±8			
ExPAO	24±71	64±9	64±8			
FSA-bas 1 (ml/min/100ml)						
ExCON	2.15 [1,48–3,43]	5,83±3,79*	2,75±1,64†	0.60	<0,0001	0.81
ExRFS	2,02 [1,21–2,43]	5,74±2,26*	1,70±1,64†			
ExPAO	1,80 [1,61–1,89]	6,02±1,54*	2,06±0,87†			
FSA-hiper (ml/min/100ml)						



ExCON	17,52±6,00	14,57±4,84	15,03±5,77	0,85	0,003	0,29
ExRFS	17,02±4,72	16,00±4,88	16,46±5,21			
ExPAO	17,20±4,34	13,11±4,26*	16,32±4,29			
FSA - basal 2/ FSA nitro (ml/min/100ml)						
ExCON	1,75±0,83 / 1,92 ±1,02			0,23	0,77	0,74
ExRFS	1,90±0,79 / 2,02±1,07					
ExPAO	1,78±0,57 / 2,25±0,91					
Inc. (%) (hiperemia)						
ExCON	889,88±402,71	314,16±151,05*	670,11±359,97	0,02	<0,0001	0,24
ExRFS	1137,65±761,55	322,90±181,31*	1279,63±713,65**			
ExPAO	973,05±410,52	218,65±57,35*	936,66±427,49			

RFS, restrição do fluxo sanguíneo; ExCON, grupo controle; ExRFS, Grupo de restrição de fluxo sanguíneo; ExPAO, Pressão de oclusão arterial; PAM, Pressão arterial média; FC, Frequência cardíaca; FSA, Fluxo sanguíneo do antebraço; FSA-bas 1, FSA no fluxo basal 1; FSA-bas 2, FSA no fluxo basal 2; FSA nitro, FSA após uso de nitroglicerina ;FSA-hiper, FSA durante hiperemia reativa; Inc (%) (hiperemia), incremento percentual da hiperemia/basal *Valores de p* da ANOVA de duas entradas. Resultados expressos em média±desvio padrão ou mediana [percentis 25–75].

\*: Comparação para o mesmo grupo, no início do experimento ( $P \leq 0,0001$ );

†: Comparação para o mesmo grupo, a 0 min ( $P = 0,007$ );

\*\* : Comparação entre ExRFS e ExCON, a 30 min ( $P < 0,01$ );

Fonte: CARDOZO, GG, 2023.

## Discussão

O presente estudo examinou os efeitos agudos do exercício de força de preensão manual combinado com três situações experimentais (ExRFS, ExPAO e ExCON) na função vascular de 12 homens jovens aparentemente saudáveis e sedentários. Os principais achados do presente estudo foram os seguintes: 1) O FSA é prejudicado após hiperemia reativa imediatamente após exercício quando há uma pressão arterial oclusiva (ExPAO), o que foi confirmado quando analisou percentual de incremento da hiperemia:basal na situação ExPAO; 2) Não há diferenças significativas do FSA, entre os protocolos ExRFS, ExPAO e ExCON, imediatamente após fadiga durante o exercício; 3) Parece que em 30 minutos após o exercício a função vascular, independente do protocolo, retorna a valores pré-exercício.

O entendimento da resposta da função vascular a diferentes modelos de estresse interessa clinicamente a diversas populações, principalmente com doenças cardiovasculares como as cardiopatias e hipertensão arterial. (CRUZ-JENTOFT; BAHAT; BAUER; BOIRIE *et al.*, 2019; SHIMIZU, R.; HOTTA, K.; YAMAMOTO, S.; MATSUMOTO, T. *et al.*, 2016; WILLIAMS; HASKELL; ADES; AMSTERDAM *et al.*, 2007) O exercício físico tem sido responsável pelas melhorias da função vascular em diferentes populações com comprometimento cardiovascular.(GREEN; SMITH, 2018) Porém, algumas condições podem ser deletérias ou favoráveis sobre a função vascular de forma aguda, como é uma situação de obesidade ou nível habitual de atividade física respectivamente (DURAND; GUTTERMAN, 2014; KOENEN; HILL; COHEN; SOWERS, 2021).

Em nosso estudo testamos indivíduos jovens com o IMC normal (não obesos), sedentários, aparentemente saudáveis e que não faziam uso de substâncias ou medicamentos que pudessem afetar agudamente a função endotelial, ou seja, acreditamos que os principais fatores de confundimento sobre as respostas agudas da função vascular tenham sido controlados em nosso protocolo de estudo. Além desse controle dessas variáveis

independentes (IMC, nível habitual de atividade física, uso de medicamentos ou substâncias com ação direta hemodinâmica e sexo), as variáveis hemodinâmicas e de fluxo sanguíneo de antebraço pré-exercício apresentaram comportamentos semelhantes nos diferentes protocolos, como já foi demonstrado em estudos semelhantes para medidas agudas da função vascular (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016; SCHREUDER; GREEN; HOPMAN; THIJSSSEN, 2015; THIJSSSEN; DAWSON; TINKEN; CABLE *et al.*, 2009; TINKEN; THIJSSSEN; HOPKINS; BLACK *et al.*, 2009). Um outro aspecto importante foi o resultado da função vascular endotélio-independente ter sido semelhante nos diferentes experimentos, o que homogeneizou os grupos para esse possível fator de confundimento da resposta vascular aguda.

Um achado importante em nosso estudo é a relação inversa do nível de restrição de fluxo sanguíneo com a duração do tempo de exercício de baixa intensidade para o alcance da fadiga. Tal fenômeno já foi descrito na meta-análise de Cerqueira e colaboradores (2021) (CERQUEIRA; LIRA; MENDONÇA BARBOZA; BURR *et al.*, 2021).

Um fenômeno que se destacou em nosso estudo foi a redução do fluxo sanguíneo de antebraço após a hiperemia reativa imediatamente após o exercício no protocolo ExPAO. Tal fenômeno pode ser explicado por um aumento exacerbado da endotelina-1, que é um potente vasoconstritor produzido pelas células endoteliais e liberado em resposta a estímulos físicos e químicos (WESTBY; WEIL; GREINER; STAUFFER *et al.*, 2011) Além disso, elevam-se outros marcadores associados ao aumento do fluxo retrogrado e que geram vasoconstrição e uma consequente redução do fluxo sanguíneo local. Isso foi demonstrado no estudo de Paiva e colaboradores (2016)(PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016) em que numa amostra contendo homens jovens foi gerado um estresse de restrição de fluxo sanguíneo com o consequente aumento do fluxo retrogrado e redução do fluxo anterógrado. Neste estudo

foi demonstrada uma associação entre o fluxo retrogrado e redução da FMD 15 minutos após o estresse com RFS.

Outro fator que pode alterar a função vascular aguda é a intensidade do treinamento no quesito metabólico do óxido nítrico, o qual exibe um papel fisiológico duplo, pois ao mesmo tempo em que desempenha função vasodilatadora, anti-hipertensiva e antiaterosclerótica, também pode causar danos oxidativos através da formação do radical peroxinitrito na presença do ânion superóxido. Já foi demonstrado que, agudamente, o exercício de força tradicional de alta intensidade pode comprometer a vasodilatação mediada pelo fluxo, reduzindo os níveis de NOx em indivíduos sedentários (FRANKLIN; ALI; GOSLAWSKI; WANG *et al.*, 2014). Nesse cenário, a redução da biodisponibilidade do óxido nítrico, associada à alta intensidade, pode ser resultado do aumento da ativação simpática durante o exercício e consequente vasoconstrição mediada pela acetilcolina (SMITH; BUFFINGTON; HAMLIN; DEVOR, 2015). Quando analisamos o percentual de incremento (%basal-hiperemia), observamos uma diminuição significativa entre o pré-exercício e imediatamente após o exercício em todos os grupos. Este fenômeno já foi descrito por (DAWSON; GREEN; CABLE; THIJSSSEN, 2013), que observaram a redução da FMD, mostrando que imediatamente após ao exercício pode ocorrer redução na resposta vascular oriunda de inúmeros fatores como o acúmulo de estresse de hiperemia reativa, diferentes durações de exercício e outras condições estressoras.

Em nosso estudo, os indivíduos eram sedentários e o mecanismo estressor em ExPAO pode ter sido semelhante aos modelos tradicionais de treinamento de alta intensidade, ou seja, uma redução da biodisponibilidade de óxido nítrico oriunda do estresse específico. Tal efeito deletério após RFS foi identificado no estudo de Paiva e colaboradores (2016)(PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016) até 15 minutos após o estresse.

Um outro fenômeno que podemos destacar em nosso estudo foi a restauração do fluxo sanguíneo de antebraço, nos diferentes protocolos, na condição basal e de hiperemia 30 minutos após. No estudo de Paiva e colaboradores (2016) (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016), que contou com uma população semelhante ao nosso estudo, o retorno dos valores basais da função vascular ocorreu 60 minutos após. Tal fenômeno pode ser explicado pela redução da concentração da endotelina-1, o que geraria uma diminuição da ação vasoconstrictora e conseqüentemente, com a manutenção dos valores hemodinâmicos, provocando um aumento do fluxo sanguíneo local. A restauração do FSA pode estar associada ao aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico, fazendo com que ocorra uma vasodilatação pós-exercício e conseqüentemente o aumento de fluxo sanguíneo comparado às condições imediatamente após o exercício (FRANZONI; GHIADONI; GALETTA; PLANTINGA *et al.*, 2005).

Apesar da condição de sedentarismo, os indivíduos eram jovens, sendo que tal característica pode justificar a restauração do fluxo sanguíneo, ou seja, uma capacidade maior antioxidante e também uma ação vasodilatadora mais eficaz, como já foi demonstrado por Franzoni e colaboradores (2005) (FRANZONI; GHIADONI; GALETTA; PLANTINGA *et al.*, 2005).

Algumas limitações de nosso estudo merecem discussão. Primeiro, atingimos 66% do N amostral previsto no cálculo de potência amostral prévio. Segundo o número de vezes em que o FSA pós-exercício foi avaliada, sendo limitada a duas vezes. A incorporação de mais medidas de FSA pós-exercício poderia ter sido vantajosa, embora os principais achados provavelmente sejam semelhantes aos nossos resultados, como foi demonstrado no estudo de Paiva e colaboradores (2016) (PAIVA; VIANNA; FERNANDES; NÓBREGA *et al.*, 2016). Nosso estudo foi restrito exclusivamente a homens e, portanto, nossos achados não podem ser extrapolados para mulheres. Além disso, não se sabe se a função endotelial pós-exercício é

afetada de forma semelhante FSA em mulheres. O mesmo pode ser afirmado para uma população mais idosa ou que apresentem distúrbios cardiovasculares. Estudos futuros sobre essas questões são necessários.

### Perspectivas

Um crescente corpo de evidências apoia o uso de exercícios (treinamento de resistência de baixa intensidade, caminhada e ciclismo) combinados com RFS para aumentar as respostas hipertróficas e de força no músculo esquelético. Porém, nossos dados indicam que o exercício com RFS, principalmente com oclusão vascular, abole o aumento imediatamente pós-exercício na função vascular. Isso pode ser uma desvantagem desse método, especialmente para aqueles com fatores de risco conhecidos ou doenças cardiovasculares. No entanto, em nosso estudo, 30 minutos após ao exercício, independentemente do nível de restrição, o fluxo sanguíneo de antebraço é restaurado, o que não seria prejudicial às populações com riscos vasculares conhecidos. Lembrando que tal condição deve ser conhecida a longo prazo para que possa ter afirmações mais consistentes sobre os reais riscos do método sobre a saúde vascular.

Em conclusão, uma única sessão de exercício de prensão manual provocou um aumento agudo no FSA imediatamente após o exercício nos diferentes protocolos, tendendo a uma redução no percentual de incremento (basal:hiperemia) em todos os grupos e a uma redução do FSA na hiperemia reativa imediatamente após o exercício no grupo ExPAO, porém retornando aos valores basais 30 min após ao término do exercício.

## REFERÊNCIAS

- BOTTINO, D. A.; LOPES, F. G.; DE OLIVEIRA, F. J.; MECENAS, A. D. S. *et al.* Relationship between biomarkers of inflammation, oxidative stress and endothelial/microcirculatory function in successful aging versus healthy youth: a transversal study. **BMC Geriatrics**, 15, n. 1, p. 41, 2015/04/08 2015.
- CENTNER, C.; WIEGEL, P.; GOLLHOFER, A.; KONIG, D. Effects of Blood Flow Restriction Training on Muscular Strength and Hypertrophy in Older Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, 49, n. 1, p. 95-108, Jan 2019.
- CERQUEIRA, M. S.; LIRA, M.; MENDONÇA BARBOZA, J. A.; BURR, J. F. *et al.* Repetition Failure Occurs Earlier During Low-Load Resistance Exercise With High But Not Low Blood Flow Restriction Pressures: A Systematic Review and Meta-analysis. **J Strength Cond Res**, Jul 26 2021.
- CREDEUR, D. P.; HOLLIS, B. C.; WELSCH, M. A. Effects of handgrip training with venous restriction on brachial artery vasodilation. **Med Sci Sports Exerc**, 42, n. 7, p. 1296-1302, Jul 2010.
- CRUZ-JENTOFT, A. J.; BAHAT, G.; BAUER, J.; BOIRIE, Y. *et al.* Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. **Age Ageing**, 48, n. 4, p. 601, Jul 1 2019.
- DURAND, M. J.; GUTTERMAN, D. D. Exercise and vascular function: how much is too much? **Can J Physiol Pharmacol**, 92, n. 7, p. 551-557, Jul 2014.
- FRANKLIN, N. C.; ALI, M.; GOSLAWSKI, M.; WANG, E. *et al.* Reduced vasodilator function following acute resistance exercise in obese women. **Front Physiol**, 5, p. 253, 2014.
- FRANZONI, F.; GHIADONI, L.; GALETTA, F.; PLANTINGA, Y. *et al.* Physical activity, plasma antioxidant capacity, and endothelium-dependent vasodilation in young and older men. **Am J Hypertens**, 18, n. 4 Pt 1, p. 510-516, Apr 2005.
- FRY, C. S.; GLYNN, E. L.; DRUMMOND, M. J.; TIMMERMAN, K. L. *et al.* Blood flow restriction exercise stimulates mTORC1 signaling and muscle protein synthesis in older men. **J Appl Physiol (1985)**, 108, n. 5, p. 1199-1209, May 2010.
- GREEN, D. J.; SMITH, K. J. Effects of Exercise on Vascular Function, Structure, and Health in Humans. **Cold Spring Harb Perspect Med**, 8, n. 4, Apr 2 2018.
- HUGHES, L.; PATON, B.; ROSENBLATT, B.; GISSANE, C. *et al.* Blood flow restriction training in clinical musculoskeletal rehabilitation: a systematic review and meta-analysis. **Br J Sports Med**, 51, n. 13, p. 1003-1011, Jul 2017.
- JENKINS, N. T.; PADILLA, J.; BOYLE, L. J.; CREDEUR, D. P. *et al.* Disturbed blood flow acutely induces activation and apoptosis of the human vascular endothelium. **Hypertension**, 61, n. 3, p. 615-621, Mar 2013.

KIM, J.; LANG, J. A.; PILANIA, N.; FRANKE, W. D. Effects of blood flow restricted exercise training on muscular strength and blood flow in older adults. **Experimental Gerontology**, 99, p. 127-132, 2017/12/01/ 2017.

KOENEN, M.; HILL, M. A.; COHEN, P.; SOWERS, J. R. Obesity, Adipose Tissue and Vascular Dysfunction. **Circ Res**, 128, n. 7, p. 951-968, Apr 2 2021.

LEAF, D. A.; KLEINMAN, M. T.; HAMILTON, M.; BARSTOW, T. J. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. **Med Sci Sports Exerc**, 29, n. 8, p. 1036-1039, Aug 1997.

LIXANDRÃO, M. E.; UGRINOWITSCH, C.; BERTON, R.; VECHIN, F. C. *et al.* Magnitude of Muscle Strength and Mass Adaptations Between High-Load Resistance Training Versus Low-Load Resistance Training Associated with Blood-Flow Restriction: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, 48, n. 2, p. 361-378, Feb 2018.

LOPES, K. G.; BOTTINO, D. A.; FARINATTI, P.; DE SOUZA, M. *et al.* Strength training with blood flow restriction - a novel therapeutic approach for older adults with sarcopenia? A case report. **Clin Interv Aging**, 14, p. 1461-1469, 2019.

NOGUEIRA, J. E.; PASSAGLIA, P.; MOTA, C. M. D.; SANTOS, B. M. *et al.* Molecular hydrogen reduces acute exercise-induced inflammatory and oxidative stress status. **Free Radic Biol Med**, 129, p. 186-193, Dec 2018.

PAIVA, F. M.; VIANNA, L. C.; FERNANDES, I. A.; NÓBREGA, A. C. *et al.* Effects of disturbed blood flow during exercise on endothelial function: a time course analysis. **Braz J Med Biol Res**, 49, n. 4, p. e5100, 2016.

PATTERSON, S. D.; HUGHES, L.; WARMINGTON, S.; BURR, J. *et al.* Blood Flow Restriction Exercise: Considerations of Methodology, Application, and Safety. **Front Physiol**, 10, p. 533, 2019.

PICKERING, T. G.; HALL, J. E.; APPEL, L. J.; FALKNER, B. E. *et al.* Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. **Circulation**, 111, n. 5, p. 697-716, Feb 8 2005.

SCHREUDER, T. H.; GREEN, D. J.; HOPMAN, M. T.; THIJSEN, D. H. Impact of retrograde shear rate on brachial and superficial femoral artery flow-mediated dilation in older subjects. **Atherosclerosis**, 241, n. 1, p. 199-204, Jul 2015.

SHIMIZU, R.; HOTTA, K.; YAMAMOTO, S.; MATSUMOTO, T. *et al.* Low-intensity resistance training with blood flow restriction improves vascular endothelial function and peripheral blood circulation in healthy elderly people. **European Journal of Applied Physiology**, 116, n. 4, p. 749-757, 2016/04/01 2016.

SHIMIZU, R.; HOTTA, K.; YAMAMOTO, S.; MATSUMOTO, T. *et al.* Low-intensity resistance training with blood flow restriction improves vascular endothelial function and



peripheral blood circulation in healthy elderly people. **Eur J Appl Physiol**, 116, n. 4, p. 749-757, Apr 2016.

SMITH, M. M.; BUFFINGTON, C. A.; HAMLIN, R. L.; DEVOR, S. T. Relationship between muscle sympathetic nerve activity and aortic wave reflection characteristics in aerobic- and resistance-trained subjects. **Eur J Appl Physiol**, 115, n. 12, p. 2609-2619, Dec 2015.

SPIRIT 2013 Statement: Defining Standard Protocol Items for Clinical Trials. **Annals of Internal Medicine**, 158, n. 3, p. 200-207, 2013.

TAKARADA, Y.; TAKAZAWA, H.; SATO, Y.; TAKEBAYASHI, S. *et al.* Effects of resistance exercise combined with moderate vascular occlusion on muscular function in humans. **J Appl Physiol (1985)**, 88, n. 6, p. 2097-2106, Jun 2000.

THIJSEN, D. H.; DAWSON, E. A.; TINKEN, T. M.; CABLE, N. T. *et al.* Retrograde flow and shear rate acutely impair endothelial function in humans. **Hypertension**, 53, n. 6, p. 986-992, Jun 2009.

TINKEN, T. M.; THIJSEN, D. H.; HOPKINS, N.; BLACK, M. A. *et al.* Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. **Hypertension**, 54, n. 2, p. 278-285, Aug 2009.

WESTBY, C. M.; WEIL, B. R.; GREINER, J. J.; STAUFFER, B. L. *et al.* Endothelin-1 vasoconstriction and the age-related decline in endothelium-dependent vasodilatation in men. **Clin Sci (Lond)**, 120, n. 11, p. 485-491, Jun 2011.

WILLIAMS, M. A.; HASKELL, W. L.; ADES, P. A.; AMSTERDAM, E. A. *et al.* Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**, 116, n. 5, p. 572-584, Jul 31 2007.

YASUDA, T.; FUKUMURA, K.; FUKUDA, T.; UCHIDA, Y. *et al.* Muscle size and arterial stiffness after blood flow-restricted low-intensity resistance training in older adults. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, 24, n. 5, p. 799-806, 2014.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o envelhecimento da população e a necessidade do desenvolvimento de estratégias para prevenir e tratar disfunções osteomioarticulares, é de suma importância o conhecimento das respostas fisiológicas agudas e adaptações crônicas sobre métodos de treinamento associados a RFS, que veem sendo amplamente utilizados entre treinadores, fisiologistas, pesquisadores e na reabilitação. Por essa e outras questões, se torna necessário o conhecimento de aspectos fisiológicos, metodológicos e de segurança existentes nessa técnica bastante difundida no âmbito das ciências da atividade física, entendendo a importância da otimização e da eficácia, assim como a minimização dos riscos associados a essa prática.

Para tanto, realizamos uma revisão sistemática que demonstrou que o exercício com a RFS não surtia efeitos agudos deletérios sobre a função vascular, diferente da RFS aplicada em condições sem exercício. Porém, foram observadas lacunas metodológicas nos modelos apresentados na revisão.

Conhecendo a relevância do exercício físico com RFS sobre os aspectos musculares e funcionais em diversas populações, surgiu a necessidade de desenvolver um protocolo que respondesse a pergunta sobre a magnitude da pressão aplicada, seja restritiva e/ou oclusiva. Para isso foi desenvolvido um protocolo, buscando entender se os diferentes modelos de restrição de fluxo sanguíneo em conjunto com o exercício de preensão palmar de baixa intensidade poderiam gerar efeitos deletérios agudos sobre a função vascular de indivíduos jovens e idosos. Porém, devido a uma pandemia mundial da COVID-19 e as regras sanitárias rigorosas para o fluxo de idosos na UERJ, não foi possível inserir uma população idosa no contexto a ser estudado.

O protocolo já havia sido registrado e publicado, no ano de 2021, em periódico científico específico sobre protocolos. Resolvemos, apesar do período de pandemia instável no país, continuar as coletas com o público jovem saudável, sendo que obtivemos 12 indivíduos saudáveis do sexo masculino.

No que tange ao campo do conhecimento, a tese forneceu informações relevantes sobre as características da função vascular em diferentes situações de exercício com ou sem restrição de fluxo sanguíneo. Na revisão sistemática, que está apresentada em formato de artigo na tese, foi mostrado um resumo com os resultados de ensaios que examinaram os efeitos agudos da restrição de fluxo sanguíneo em diferentes magnitudes, em modelos de

exercício e sem exercício físico para pessoas saudáveis. São poucos os estudos existentes e com um número pequeno de indivíduos envolvidos na análise final dos mesmos, porém os estudos acumularam evidências indicando que aumentos agudos no cisalhamento anterógrado promovidos pelo exercício físico levam a melhorias na FMD em jovens saudáveis. E uma pressão de manguito superior a 50 mmHg parece provocar um declínio da função endotelial, pelo menos em indivíduos jovens. A ausência de comprometimento da função endotelial em indivíduos mais velhos após pressões restritivas parece estar relacionada a uma capacidade atenuada de adaptação em resposta à taxa de cisalhamento devido a uma provável FMD reduzida. A diminuição da biodisponibilidade de NO contribui para uma menor vasodilatação dependente do endotélio em indivíduos mais velhos. Além disso, outros fenômenos como a redução da responsividade da musculatura vascular lisa, aumento da rigidez arterial e/ou hiperatividade do Sistema Nervoso Simpático podem estar associados a esses achados.

Melhorias na função vascular induzidas pelo exercício são amplamente demonstradas em diversos documentos científicos e muitos estudos mencionados na revisão sistemática da tese atribuíram tais feitos ao papel da biodisponibilidade do óxido nítrico sobre o endotélio, que além de ser um potente vasodilatador, o mesmo atua inibindo agregação plaquetária e adesão leucocitária, induzindo benefícios clinicamente relevantes para diferentes populações. De certo modo, a segurança vascular do método de treinamento físico com restrição de fluxo sanguíneo é uma escolha de suma importância, desde que se conheça a condição clínica ou fisiológica do indivíduo. Finalmente, a magnitude ou duração do estímulo de cisalhamento retrógrado pode ter sido insuficiente para comprometer a função endotelial nas amostras específicas. Mais pesquisas são necessárias para esclarecer os mecanismos fisiológicos que explicam a menor capacidade de resposta de indivíduos mais velhos versus jovens ao cisalhamento retrógrado induzido por RFS. Para uma breve contribuição na área, realizamos experimentos que podem elucidar informações sobre os possíveis fenômenos vasculares decorrentes dos diferentes modelos de restrição de fluxo sanguíneo associados ao exercício físico de baixa intensidade.

Nosso estudo original, analisando dados específicos da pletismografia, indica que imediatamente após o exercício com oclusão vascular há uma redução no fluxo sanguíneo de antebraço após hiperemia reativa. Porém, 30 minutos após ao exercício, independentemente do nível de restrição, a função vascular, expressa pelo fluxo sanguíneo de antebraço em condição basal e pós hiperemia reativa, é restaurada.

Tendo em vista os fenômenos decorrentes, se faz necessário que os profissionais da área das ciências do exercício adquiram conhecimentos sobre os mecanismos e fenômenos associados ao treinamento com restrição de fluxo sanguíneo para aplicá-los em sua prática cotidiana com a maior eficiência possível dentro de uma condição máxima de segurança.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS, M.; CHODZKO-ZAJKO, W. J.; PROCTOR, D. N.; FIATARONE SINGH, M. A. *et al.* American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 7, p. 1510-1530, Jul 2009.

AMORIM, S.; ROLNICK, N.; SCHOENFELD, B. J.; AAGAARD, P. Low-intensity resistance exercise with blood flow restriction and arterial stiffness in humans: A systematic review. **Scand J Med Sci Sports**, v. 31, n. 3, p. 498-509, Mar 2021.

ATKINSON, C. L.; LEWIS, N. C.; CARTER, H. H.; THIJSSSEN, D. H. *et al.* Impact of sympathetic nervous system activity on post-exercise flow-mediated dilatation in humans. **J Physiol**, v. 593, n. 23, p. 5145-5156, Dec 1 2015.

BLACK, M. A.; CABLE, N. T.; THIJSSSEN, D. H.; GREEN, D. J. Importance of measuring the time course of flow-mediated dilatation in humans. **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 203-210, Feb 2008.

BONETTI, P. O.; LERMAN, L. O.; LERMAN, A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, n. 2, p. 168-175, Feb 1 2003.

BOTTINO, D. A.; LOPES, F. G.; DE OLIVEIRA, F. J.; MECENAS, A. D. S. *et al.* Relationship between biomarkers of inflammation, oxidative stress and endothelial/microcirculatory function in successful aging versus healthy youth: a transversal study. **BMC Geriatrics**, v. 15, n. 1, p. 41, 10 Aug. 2015.

CENTNER, C.; WIEGEL, P.; GOLLHOFER, A.; KONIG, D. Effects of Blood Flow Restriction Training on Muscular Strength and Hypertrophy in Older Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, v. 49, n. 1, p. 95-108, Jan 2019.

CERQUEIRA, M. S.; LIRA, M.; MENDONÇA BARBOZA, J. A.; BURR, J. F. *et al.* Repetition Failure Occurs Earlier During Low-Load Resistance Exercise With High But Not Low Blood Flow Restriction Pressures: A Systematic Review and Meta-analysis. **J Strength Cond Res**, Jul 26 2021.

CHAPPELL, D. C.; VARNER, S. E.; NEREM, R. M.; MEDFORD, R. M. *et al.* Oscillatory shear stress stimulates adhesion molecule expression in cultured human endothelium. **Circ Res**, v. 82, n. 5, p. 532-539, Mar 23 1998.

CHENG, C.; TEMPEL, D.; VAN HAPEREN, R.; VAN DER BAAN, A. *et al.* Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress. **Circulation**, v. 113, n. 23, p. 2744-2753, Jun 13 2006.

CORRETTI, M. C.; ANDERSON, T. J.; BENJAMIN, E. J.; CELERMAJER, D. *et al.* Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. **J Am Coll Cardiol**, v. 39, n. 2, p. 257-265, Jan 16 2002.

CREDEUR, D. P.; HOLLIS, B. C.; WELSCH, M. A. Effects of handgrip training with venous restriction on brachial artery vasodilation. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 7, p. 1296-1302, Jul 2010.

CRISTINA-OLIVEIRA, M.; MEIRELES, K.; SPRANGER, M. D.; O'LEARY, D. S. *et al.* Clinical safety of blood flow-restricted training? A comprehensive review of altered muscle metaboreflex in cardiovascular disease during ischemic exercise. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 318, n. 1, p. H90-H109, Jan 1 2020.

CRUZ-JENTOFT, A. J.; BAHAT, G.; BAUER, J.; BOIRIE, Y. *et al.* Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. **Age Ageing**, v. 48, n. 4, p. 601, Jul 1 2019.

DA CUNHA NASCIMENTO, D.; SCHOENFELD, B. J.; PRESTES, J. Potential Implications of Blood Flow Restriction Exercise on Vascular Health: A Brief Review. **Sports Med**, v. 50, n. 1, p. 73-81, Jan 2020.

DAWSON, E. A.; BOIDIN, M.; THOMPSON, R.; CABLE, N. T. *et al.* Impact of proximal and distal cuff inflation on brachial artery endothelial function in healthy individuals. **Eur J Appl Physiol**, v. 121, n. 4, p. 1135-1144, Apr 2021.

DAWSON, E. A.; GREEN, D. J.; CABLE, N. T.; THIJSSSEN, D. H. Effects of acute exercise on flow-mediated dilatation in healthy humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 115, n. 11, p. 1589-1598, Dec 2013.

DE KEULENAER, G. W.; ALEXANDER, R. W.; USHIO-FUKAI, M.; ISHIZAKA, N. *et al.* Tumour necrosis factor alpha activates a p22phox-based NADH oxidase in vascular smooth muscle. **Biochem J**, v. 329 ( Pt 3), n. Pt 3, p. 653-657, Feb 1 1998.

DEMINICE, R.; SICCHIERI, T.; MIALICH, M. S.; MILANI, F. *et al.* Oxidative stress biomarker responses to an acute session of hypertrophy-resistance traditional interval training and circuit training. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 3, p. 798-804, Mar 2011.

DI FRANCESCOMARINO, S.; SCIARTILLI, A.; DI VALERIO, V.; DI BALDASSARRE, A. *et al.* The effect of physical exercise on endothelial function. **Sports Med**, v. 39, n. 10, p. 797-812, 2009.

DURAND, M. J.; GUTTERMAN, D. D. Exercise and vascular function: how much is too much? **Can J Physiol Pharmacol**, v. 92, n. 7, p. 551-557, Jul 2014.

EL KHOUDARY, S. R.; AGGARWAL, B.; BECKIE, T. M.; HODIS, H. N. *et al.* Menopause Transition and Cardiovascular Disease Risk: Implications for Timing of Early Prevention: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Circulation**, v. 142, n. 25, p. e506-e532, Dec 22 2020.

FRANKLIN, N. C.; ALI, M.; GOSLAWSKI, M.; WANG, E. *et al.* Reduced vasodilator function following acute resistance exercise in obese women. **Front Physiol**, v. 5, p. 253, 2014.

FRANZONI, F.; GHIADONI, L.; GALETTA, F.; PLANTINGA, Y. *et al.* Physical activity, plasma antioxidant capacity, and endothelium-dependent vasodilation in young and older men. **Am J Hypertens**, 18, n. 4 Pt 1, p. 510-516, Apr 2005.

FRY, C. S.; GLYNN, E. L.; DRUMMOND, M. J.; TIMMERMAN, K. L. *et al.* Blood flow restriction exercise stimulates mTORC1 signaling and muscle protein synthesis in older men. **J Appl Physiol (1985)**, v. 108, n. 5, p. 1199-1209, May 2010.

GONZALES, J. U.; THOMPSON, B. C.; THISTLETHWAITE, J. R.; SCHEUERMANN, B. W. Association between exercise hemodynamics and changes in local vascular function following acute exercise. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 36, n. 1, p. 137-144, Feb 2011.

GREEN, D. J.; HOPMAN, M. T. E.; PADILLA, J.; LAUGHLIN, M. H. *et al.* Vascular Adaptation to Exercise in Humans: Role of Hemodynamic Stimuli. **Physiological reviews**, v. 97, n. 2, p. 495-528, 2017.

GREEN, D. J.; SMITH, K. J. Effects of Exercise on Vascular Function, Structure, and Health in Humans. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 8, n. 4, Apr 2 2018.

GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L. *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. **Anal Biochem**, v. 126, n. 1, p. 131-138, Oct 1982.

GUALANO, B.; NEVES, M., JR.; LIMA, F. R.; PINTO, A. L. *et al.* Resistance training with vascular occlusion in inclusion body myositis: a case study. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 2, p. 250-254, Feb 2010.

GUALANO, B.; UGRINOWITSCH, C.; NEVES, M., JR.; LIMA, F. R. *et al.* Vascular occlusion training for inclusion body myositis: a novel therapeutic approach. **J Vis Exp**, n. 40, Jun 5 2010.

HARRIS, R. A.; NISHIYAMA, S. K.; WRAY, D. W.; RICHARDSON, R. S. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. **Hypertension**, v. 55, n. 5, p. 1075-1085, May 2010.

HARRISON, D. G.; WIDDER, J.; GRUMBACH, I.; CHEN, W. *et al.* Endothelial mechanotransduction, nitric oxide and vascular inflammation. **J Intern Med**, v. 259, n. 4, p. 351-363, Apr 2006.

HAWKE, T. J.; GARRY, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **J Appl Physiol (1985)**, v. 91, n. 2, p. 534-551, Aug 2001.

HIJMERING, M. L.; STROES, E. S.; OLIJHOEK, J.; HUTTEN, B. A. *et al.* Sympathetic activation markedly reduces endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation. **J Am Coll Cardiol**, v. 39, n. 4, p. 683-688, Feb 20 2002.

HIMBURG, H. A.; DOWD, S. E.; FRIEDMAN, M. H. Frequency-dependent response of the vascular endothelium to pulsatile shear stress. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 293, n. 1, p. H645-653, Jul 2007.

HORIUCHI, M.; OKITA, K. Blood flow restricted exercise and vascular function. **Int J Vasc Med**, 2012, p. 543218, 2012.

HUGHES, L.; PATON, B.; ROSENBLATT, B.; GISSANE, C. *et al.* Blood flow restriction training in clinical musculoskeletal rehabilitation: a systematic review and meta-analysis. **Br J Sports Med**, Gustavo Gonçalves Cardoso51, n. 13, p. 1003-1011, Jul 2017.

HUNT, J. E.; WALTON, L. A.; FERGUSON, R. A. Brachial artery modifications to blood flow-restricted handgrip training and detraining. **J Appl Physiol (1985)**, v. 112, n. 6, p. 956-961, Mar 2012.

JENKINS, N. T.; PADILLA, J.; BOYLE, L. J.; CREDEUR, D. P. *et al.* Disturbed blood flow acutely induces activation and apoptosis of the human vascular endothelium. **Hypertension**, v. 61, n. 3, p. 615-621, Mar 2013.



KAMADA, M.; SHIROMA, E. J.; BURING, J. E.; MIYACHI, M. *et al.* Strength Training and All-Cause, Cardiovascular Disease, and Cancer Mortality in Older Women: A Cohort Study. **J Am Heart Assoc**, v. 6, n. 11, Oct 31 2017.

KAMBIČ, T.; NOVAKOVIĆ, M.; TOMAŽIN, K.; STROJNIK, V. *et al.* Blood Flow Restriction Resistance Exercise Improves Muscle Strength and Hemodynamics, but Not Vascular Function in Coronary Artery Disease Patients: A Pilot Randomized Controlled Trial. **Front Physiol**, v. 10, p. 656, 2019.

KAWADA, S.; ISHII, N. Changes in skeletal muscle size, fibre-type composition and capillary supply after chronic venous occlusion in rats. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 192, n. 4, p. 541-549, Apr 2008.

KELES, M. S.; TAYSI, S.; SEN, N.; AKSOY, H. *et al.* Effect of corticosteroid therapy on serum and CSF malondialdehyde and antioxidant proteins in multiple sclerosis. **Can J Neurol Sci**, v. 28, n. 2, p. 141-143, May 2001.

KIM, J.; LANG, J. A.; PILANIA, N.; FRANKE, W. D. Effects of blood flow restricted exercise training on muscular strength and blood flow in older adults. **Experimental Gerontology**, v. 99, p. 127-132, 2017/12/01/ 2017.

KISELEVA, R. Y.; GLASSMAN, P. M.; GREINER, C. F.; HOOD, E. D. *et al.* Targeting therapeutics to endothelium: are we there yet? **Drug Deliv Transl Res**, v. 8, n. 4, p. 883-902, Aug 2018.

KODAMA, S.; SAITO, K.; TANAKA, S.; MAKI, M. *et al.* Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. **Jama**, v. 301, n. 19, p. 2024-2035, May 20 2009.

KOENEN, M.; HILL, M. A.; COHEN, P.; SOWERS, J. R. Obesity, Adipose Tissue and Vascular Dysfunction. **Circ Res**, v. 128, n. 7, p. 951-968, Apr 2 2021.

LARKIN, K. A.; MACNEIL, R. G.; DIRAIN, M.; SANDESARA, B. *et al.* Blood flow restriction enhances post-resistance exercise angiogenic gene expression. **Med Sci Sports Exerc**, v. 44, n. 11, p. 2077-2083, Nov 2012.

LAUGHLIN, M. H.; NEWCOMER, S. C.; BENDER, S. B. Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype. **J Appl Physiol (1985)**, v. 104, n. 3, p. 588-600, Mar 2008.

LAUGHLIN, M. H.; NEWCOMER, S. C.; BENDER, S. B. Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 104, n. 3, p. 588-600, 2008.

LIXANDRÃO, M. E.; UGRINOWITSCH, C.; BERTON, R.; VECHIN, F. C. *et al.* Magnitude of Muscle Strength and Mass Adaptations Between High-Load Resistance Training Versus Low-Load Resistance Training Associated with Blood-Flow Restriction: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Med**, v. 48, n. 2, p. 361-378, Feb 2018.

LOENNEKE, J. P.; WILSON, J. M.; WILSON, G. J.; PUJOL, T. J. *et al.* Potential safety issues with blood flow restriction training. **Scand J Med Sci Sports**, v. 21, n. 4, p. 510-518, Aug 2011.

LOPES, K. G.; BOTTINO, D. A.; FARINATTI, P.; DE SOUZA, M. *et al.* Strength training with blood flow restriction - a novel therapeutic approach for older adults with sarcopenia? A case report. **Clin Interv Aging**, v. 14, p. 1461-1469, 2019.

LOPES, K. G.; FARINATTI, P.; BOTTINO, D.; SOUZA, M. D. G. *et al.* Exercise with blood flow restriction improves muscle strength and mass while preserving the vascular and microvascular function and structure of older adults. **Clin Hemorheol Microcirc**, May 19 2022.

MANINI, T. M.; CLARK, B. C. Blood flow restricted exercise and skeletal muscle health. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 37, n. 2, p. 78-85, Apr 2009.

MCNALLY, J. S.; DAVIS, M. E.; GIDDENS, D. P.; SAHA, A. *et al.* Role of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 285, n. 6, p. H2290-2297, Dec 2003.

MONTERO, D.; PIERCE, G. L.; STEHOUWER, C. D. A.; PADILLA, J. *et al.* The impact of age on vascular smooth muscle function in humans. **Journal of hypertension**, v. 33, n. 3, p. 445-453, 2015.

NAVAR, L. G. Physiology: hemodynamics, endothelial function, renin-angiotensin-aldosterone system, sympathetic nervous system. **Journal of the American Society of Hypertension : JASH**, v. 8, n. 7, p. 519-524, 2014/07// 2014.

PAGE, M. J.; MCKENZIE, J. E.; BOSSUYT, P. M.; BOUTRON, I. *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **Bmj**, v. 372, p. n71, Mar 29 2021.

PAIVA, F. M.; VIANNA, L. C.; FERNANDES, I. A.; NÓBREGA, A. C. *et al.* Effects of disturbed blood flow during exercise on endothelial function: a time course analysis. **Braz J Med Biol Res**, v. 49, n. 4, p. e5100, 2016.

PATTERSON, S. D.; HUGHES, L.; WARMINGTON, S.; BURR, J. *et al.* Blood Flow Restriction Exercise: Considerations of Methodology, Application, and Safety. **Front Physiol**, v. 10, p. 533, 2019.

PERSSON, P. B. The multiple functions of the endothelium: more than just wallpaper. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 213, n. 4, p. 747-749, Apr 2015.

PICKERING, T. G.; HALL, J. E.; APPEL, L. J.; FALKNER, B. E. *et al.* Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. **Circulation**, v. 111, n. 5, p. 697-716, Feb 8 2005.

PYKE, K. E.; POITRAS, V.; TSCHAKOVSKY, M. E. Brachial artery flow-mediated dilation during handgrip exercise: evidence for endothelial transduction of the mean shear stimulus. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 294, n. 6, p. H2669-2679, Jun 2008.

RAJENDRAN, P.; RENGARAJAN, T.; THANGAVEL, J.; NISHIGAKI, Y. *et al.* The vascular endothelium and human diseases. **Int J Biol Sci**, v. 9, n. 10, p. 1057-1069, 2013.

RAMOS, J. S.; DALLECK, L. C.; TJONNA, A. E.; BEETHAM, K. S. *et al.* The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. **Sports Med**, v. 45, n. 5, p. 679-692, May 2015.

RENZI, C. P.; TANAKA, H.; SUGAWARA, J. Effects of leg blood flow restriction during walking on cardiovascular function. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 4, p. 726-732, Apr 2010.

ROCHA, H. N. M.; GARCIA, V. P.; BATISTA, G. M. S.; SILVA, G. M. *et al.* Disturbed blood flow induces endothelial apoptosis without mobilizing repair mechanisms in hypertension. **Life Sci**, v. 209, p. 103-110, Sep 15 2018.

RODRIGUEZ, M. C.; ROSENFELD, J.; TARNOPOLSKY, M. A. Plasma malondialdehyde increases transiently after ischemic forearm exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 11, p. 1859-1865, Nov 2003.

SAEIDIFARD, F.; MEDINA-INOJOSA, J. R.; WEST, C. P.; OLSON, T. P. *et al.* The association of resistance training with mortality: A systematic review and meta-analysis. **Eur J Prev Cardiol**, v. 26, n. 15, p. 1647-1665, Oct 2019.

SCHREUDER, T. H.; GREEN, D. J.; HOPMAN, M. T.; THIJSSSEN, D. H. Acute impact of retrograde shear rate on brachial and superficial femoral artery flow-mediated dilation in humans. **Physiol Rep**, v. 2, n. 1, p. e00193, Jan 1 2014.

SCHREUDER, T. H.; GREEN, D. J.; HOPMAN, M. T.; THIJSSSEN, D. H. Impact of retrograde shear rate on brachial and superficial femoral artery flow-mediated dilation in older subjects. **Atherosclerosis**, v. 241, n. 1, p. 199-204, Jul 2015.

SEALS, D. R.; JABLONSKI, K. L.; DONATO, A. J. Aging and vascular endothelial function in humans. **Clinical science (London, England : 1979)**, v. 120, n. 9, p. 357-375, 2011.

SHIMIZU, R.; HOTTA, K.; YAMAMOTO, S.; MATSUMOTO, T. *et al.* Low-intensity resistance training with blood flow restriction improves vascular endothelial function and peripheral blood circulation in healthy elderly people. **European Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 4, p. 749-757, 2016/04/01 2016.

SHIMIZU, R.; HOTTA, K.; YAMAMOTO, S.; MATSUMOTO, T. *et al.* Low-intensity resistance training with blood flow restriction improves vascular endothelial function and peripheral blood circulation in healthy elderly people. **Eur J Appl Physiol**, v. 116, n. 4, p. 749-757, Apr 2016.

SIASOS, G.; ATHANASIOU, D.; TERZIS, G.; STASINAKI, A. *et al.* Acute effects of different types of aerobic exercise on endothelial function and arterial stiffness. **Eur J Prev Cardiol**, v. 23, n. 14, p. 1565-1572, Sep 2016.

SILVA, J.; MENÊSES, A. L.; PARMENTER, B. J.; RITTI-DIAS, R. M. *et al.* Effects of resistance training on endothelial function: A systematic review and meta-analysis. **Atherosclerosis**, v. 333, p. 91-99, Sep 2021.

SMITH, M. M.; BUFFINGTON, C. A.; HAMLIN, R. L.; DEVOR, S. T. Relationship between muscle sympathetic nerve activity and aortic wave reflection characteristics in aerobic- and resistance-trained subjects. **Eur J Appl Physiol**, v. 115, n. 12, p. 2609-2619, Dec 2015.

SPIRIT 2013 Statement: Defining Standard Protocol Items for Clinical Trials. **Annals of Internal Medicine**, v. 158, n. 3, p. 200-207, 2013.

STORCH, A. S.; ROCHA, H. N. M.; GARCIA, V. P.; BATISTA, G. *et al.* Oscillatory shear stress induces hemostatic imbalance in healthy men. **Thromb Res**, v. 170, p. 119-125, Oct 2018.

STUEHR, D. J.; MARLETTA, M. A. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 82, n. 22, p. 7738-7742, Nov 1985.

TADDEI, S.; VIRDIS, A.; MATTEI, P.; GHIADONI, L. *et al.* Aging and endothelial function in normotensive subjects and patients with essential hypertension. **Circulation**, v. 91, n. 7, p. 1981-1987, Apr 1 1995.

TAKANO, H.; MORITA, T.; IIDA, H.; ASADA, K. *et al.* Hemodynamic and hormonal responses to a short-term low-intensity resistance exercise with the reduction of muscle blood flow. **Eur J Appl Physiol**, v. 95, n. 1, p. 65-73, Sep 2005.

TAKARADA, Y.; NAKAMURA, Y.; ARUGA, S.; ONDA, T. *et al.* Rapid increase in plasma growth hormone after low-intensity resistance exercise with vascular occlusion. **J Appl Physiol (1985)**, v. 88, n. 1, p. 61-65, Jan 2000.

TAKARADA, Y.; TAKAZAWA, H.; SATO, Y.; TAKEBAYASHI, S. *et al.* Effects of resistance exercise combined with moderate vascular occlusion on muscular function in humans. **J Appl Physiol (1985)**, v. 88, n. 6, p. 2097-2106, Jun 2000.

THIJSEN, D. H.; ATKINSON, C. L.; ONO, K.; SPRUNG, V. S. *et al.* Sympathetic nervous system activation, arterial shear rate, and flow-mediated dilation. **J Appl Physiol (1985)**, v. 116, n. 10, p. 1300-1307, May 15 2014.

THIJSEN, D. H.; DAWSON, E. A.; TINKEN, T. M.; CABLE, N. T. *et al.* Retrograde flow and shear rate acutely impair endothelial function in humans. **Hypertension**, v. 53, n. 6, p. 986-992, Jun 2009.

TINKEN, T. M.; THIJSEN, D. H.; HOPKINS, N.; BLACK, M. A. *et al.* Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. **Hypertension**, v. 54, n. 2, p. 278-285, Aug 2009.

TINKEN, T. M.; THIJSEN, D. H.; HOPKINS, N.; DAWSON, E. A. *et al.* Shear stress mediates endothelial adaptations to exercise training in humans. **Hypertension**, v. 55, n. 2, p. 312-318, Feb 2010.

TREMBLAY, J. C.; STIMPSON, T. V.; PYKE, K. E. Evidence of sex differences in the acute impact of oscillatory shear stress on endothelial function. **J Appl Physiol** (1985), v. 126, n. 2, p. 314-321, Feb 1 2019.

VECHIN, F. C.; LIBARDI, C. A.; CONCEICAO, M. S.; DAMAS, F. R. *et al.* Comparisons between low-intensity resistance training with blood flow restriction and high-intensity resistance training on quadriceps muscle mass and strength in elderly. **J Strength Cond Res**, v. 29, n. 4, p. 1071-1076, Apr 2015.

VERHAGEN, A. P.; DE VET, H. C.; DE BIE, R. A.; KESSELS, A. G. *et al.* The Delphi list: a criteria list for quality assessment of randomized clinical trials for conducting systematic reviews developed by Delphi consensus. **J Clin Epidemiol**, v. 51, n. 12, p. 1235-1241, Dec 1998.

VION, A. C.; RAMKHELAWON, B.; LOYER, X.; CHIRONI, G. *et al.* Shear stress regulates endothelial microparticle release. **Circ Res**, v. 112, n. 10, p. 1323-1333, May 10 2013.

WANG, Z.; WANG, F.; KONG, X.; GAO, X. *et al.* Oscillatory Shear Stress Induces Oxidative Stress via TLR4 Activation in Endothelial Cells. **Mediators Inflamm**, 2019, p. 7162976, 2019.

WESTBY, C. M.; WEIL, B. R.; GREINER, J. J.; STAUFFER, B. L. *et al.* Endothelin-1 vasoconstriction and the age-related decline in endothelium-dependent vasodilatation in men. **Clin Sci (Lond)**, v. 120, n. 11, p. 485-491, Jun 2011.

WILLIAMS, M. A.; HASKELL, W. L.; ADES, P. A.; AMSTERDAM, E. A. *et al.* Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**, v. 116, n. 5, p. 572-584, Jul 31 2007.

YASUDA, T.; FUKUMURA, K.; FUKUDA, T.; UCHIDA, Y. *et al.* Muscle size and arterial stiffness after blood flow-restricted low-intensity resistance training in older adults. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 24, n. 5, p. 799-806, 2014.

ZIEGLER, T.; BOUZOURENE, K.; HARRISON, V. J.; BRUNNER, H. R. *et al.* Influence of oscillatory and unidirectional flow environments on the expression of endothelin and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 18, n. 5, p. 686-692, May 1998.

## ANEXO A – Estudo de Protocolo

Aperte o Ctrl e Clique na imagem para ter acesso ao artigo na íntegra online

Contemporary Clinical Trials Communications 22 (2021) 100740



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Contemporary Clinical Trials Communications

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/conctc>



Acute effects of physical exercise with different levels of blood flow restriction on vascular reactivity and biomarkers of muscle hypertrophy, endothelial function and oxidative stress in young and elderly subjects – A randomized controlled protocol



Gustavo Gonçalves Cardozo<sup>a,b</sup>, Karynne Grutter Lopes<sup>b,c,d</sup>, Daniel Alexandre Bottino<sup>c,d</sup>, Maria das Graças Coelho de Souza<sup>c,d</sup>, Eliete Bouskela<sup>c,d</sup>, Paulo Farinatti<sup>a,b,e</sup>, Ricardo Brandão de Oliveira<sup>a,f,\*</sup>

<sup>a</sup> Graduate Program in Exercise and Sport Sciences, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>b</sup> Laboratory of Physical Activity and Health Promotion, Institute of Physical Education and Sports, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>c</sup> Graduate Program in Clinical and Experimental Physiopathology, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>d</sup> Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>e</sup> Graduate Program in Physical Activity Sciences, Salgado de Oliveira University, Niteroi, Brazil

<sup>f</sup> Laboratory of Active Living - Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

## ANEXO B – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

UERJ - UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO;



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFEITOS AGUDOS E CRÔNICOS DO EXERCÍCIO FÍSICO REALIZADO COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESTRIÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO SOBRE A REATIVIDADE VASCULAR, A FUNÇÃO MUSCULAR E BIOMARCADORES SANGUÍNEOS MUSCULARES, VASCULARES E INFLAMATÓRIOS DE JOVENS E IDOSOS.

**Pesquisador:** DANIEL ALEXANDRE BOTTINO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 69072916.8.0000.5282

**Instituição Proponente:** Laboratório de pesquisas clínicas e experimentais em biologia vascular

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.166.110

#### Apresentação do Projeto:

O envelhecimento é caracterizado por um declínio gradual da força e da massa muscular, que resultam na diminuição da capacidade funcional, no risco aumentado de quedas, sendo, portanto, associado a uma maior hospitalização e mortalidade. Inatividade física, deficiências nutricionais, alterações hormonais e neuronais, estresse oxidativo, inflamação crônica e disfunções mitocondriais são fatores de contribuem para a redução da força e da massa muscular com o envelhecimento. Além desses fatores a circulação periférica sofre alterações morfológicas e funcionais, tais como a redução da relação capilar/fibra muscular, diminuição do diâmetro capilar e menor resposta da vasodilatação endotélio-dependente. A dieta adequada, a reposição hormonal, as terapias farmacológicas e a prática regular de atividade física aparecem como intervenções preventivas à perda da massa muscular. Dentre as diversas formas de intervenção com exercício físico, o treinamento de resistência ou força muscular é considerado o mais importante tipo de intervenção para a manutenção da massa muscular ao longo do processo de envelhecimento. Percebe-se uma importante dificuldade por parte de idosos, particularmente idosos frágeis, em seguir tais recomendações de alta intensidade.

**Endereço:** Rua São Francisco Xavier 524, BL E 3ºand. SI 3018  
**Bairro:** Maracanã **CEP:** 20.550-900  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2334-2180 **Fax:** (21)2334-2180 **E-mail:** etica@uerj.br



UERJ - UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO;



Continuação do Parecer: 2.166.110

Como uma alternativa ao treinamento de alta intensidade, os exercícios de baixa intensidade, associados a uma restrição do fluxo sanguíneo (RFS) são capazes de promover importantes respostas hipertróficas e de força muscular, mesmo quando comparados aos protocolos tradicionais que preconizam alta intensidade para os mesmos fins, sugerindo que esse método de treinamento possa ter aplicação clínica para indivíduos que sejam intolerantes a altas intensidades. Estudos realizados *in vitro* e em animais sugerem que mudanças no fluxo de cisalhamento induz a diferentes eventos celulares, como o aumento da expressão de endotelina 1, de moléculas de adesão, de enzimas produtoras de espécies reativas de oxigênio, liberação de superóxido e diminuição da expressão da óxido nítrico sintase endotelial.

Em síntese, apesar de cada vez mais difundida na prática profissional, poucos são os estudos que avaliam os possíveis efeitos deletérios do exercício físico realizado com RFS sobre a função endotelial. Assim, o presente projeto tem por objetivo avaliar a os efeitos agudos e crônicos dos exercícios de resistência muscular realizados com diferentes níveis de RFS sobre a reatividade vascular, força e massa muscular de jovens e idosos. Em adendo, através da análise de biomarcadores sanguíneos de inflamação, de estresse oxidativo e de hipertrofia muscular, pretende-se discutir alguns mecanismos fisiológicos que explicam as possíveis diferenças entre as respostas musculares e vasculares de jovens e idosos, ampliando, por fim, as discussões sobre questões metodológicas e potencial clínico desta forma de intervenção com exercício.

Assim, o presente projeto tem por objetivo avaliar a os efeitos agudos e crônicos dos exercícios de resistência muscular realizados com diferentes níveis de RFS sobre a reatividade vascular, força e massa muscular de jovens e idosos. Em adendo, através da análise de biomarcadores sanguíneos de inflamação, de estresse oxidativo e de hipertrofia muscular, pretende-se discutir alguns mecanismos fisiológicos que explicam as possíveis diferenças entre as respostas musculares e vasculares de jovens e idosos, ampliando, por fim, as discussões sobre questões metodológicas e potencial clínico desta forma de intervenção com exercício. **Materiais e métodos:** serão avaliados 40 indivíduos do sexo masculino eutróficos e fisicamente ativos sendo 20 jovens entre 18 e 25 anos e 20 idosos com idade acima de 65 anos. Os indivíduos serão randomizados para participar de 2 protocolos experimentais, seguidos de uma intervenção clínica com treinamento.

**Objetivos:** Comparar os efeitos agudos e crônicos do exercício resistido de baixa intensidade realizado com diferentes níveis de RFS sobre a função endotelial de indivíduos jovens e idosos; Comparar os efeitos agudos e crônicos do exercício resistido de baixa intensidade realizado com diferentes níveis de RFS sobre os biomarcadores sanguíneos de inflamação de indivíduos jovens e idosos; Comparar os efeitos agudos e crônicos do exercício resistido de baixa intensidade

Endereço: Rua São Francisco Xavier 524, BL E 3ºand. SI 3018  
Bairro: Maracanã CEP: 20.550-900  
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
Telefone: (21)2334-2180 Fax: (21)2334-2180 E-mail: etica@uerj.br

UERJ - UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO;



Continuação do Parecer: 2.166.110

realizado com diferentes níveis de RFS sobre o biomarcador sanguíneo de estresse oxidativo de indivíduos jovens e idosos; Comparar os efeitos agudos e crônicos do exercício resistido de baixa intensidade realizado com diferentes níveis de RFS sobre o biomarcador sanguíneo de hipertrofia muscular de indivíduos jovens e idosos; Comparar os efeitos crônicos do exercício resistido de baixa intensidade realizado com diferentes níveis de RFS sobre a massa muscular de jovens e idosos.

**Objetivo da Pesquisa:**

Comparar os efeitos crônicos do exercício resistido de baixa intensidade realizado com diferentes níveis de RFS sobre a função muscular de jovens e idosos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:** Os pacientes ao se submeterem à Pletismografia de Oclusão Venosa recebem 0,4mg de nitroglicerina sublingual para avaliação da vasodilatação endotélio-independente. Este medicamento pode causar cefaléia e raramente hipotensão arterial. Ainda não foram descritos efeitos adversos pelo uso da restrição ao fluxo sanguíneo nas intensidades descritas no presente trabalho de pesquisa. Os pacientes são acompanhados durante os exames por equipe multidisciplinar envolvendo equipe médica para atendimento de possíveis efeitos adversos.

**Benefícios:**

Os pacientes idosos se beneficiarão de exercício resistido com menor carga com restrição ao fluxo sanguíneo porque muitos deles apresentam limitações articulares.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Este Comitê trabalha com a análise dos documentos apresentados pelos pesquisadores e se limita a emitir pareceres idôneos baseados em dados fornecidos pelos mesmos. Não nos cabe determinar a veracidade dos fatos, apenas analisamos os documentos anexados. No cronograma inicial apresentado pelos pesquisadores, existia a demonstração documental de que o projeto de pesquisa em questão já havia se iniciado em novembro de 2016, se encontrando em andamento e em fase final de avaliação dos resultados finais (janeiro a maio de 2017).

Endereço: Rua São Francisco Xavier 524, BL E 3ºand. SI 3018  
Bairro: Maracanã CEP: 20.559-900  
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
Telefone: (21)2334-2180 Fax: (21)2334-2180 E-mail: [etica@uerj.br](mailto:etica@uerj.br)

Continuação do Parecer: 2.166.110

Contudo, em vista da nova apresentação documental pelo pesquisador responsável, apontando um erro na elaboração do cronograma e na sua afirmativa de que a pesquisa ainda não foi iniciada, este Comitê pode basear sua análise considerando os fatos apresentados e, desta maneira, emitir um parecer elaborado de forma imparcial, baseado na documentação corrigida.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados de forma satisfatória.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Após a apresentação dos documentos pelo Pesquisador, que demonstram que a Pesquisa em questão não foi iniciada ou executada, a COEP deliberou pela aprovação do projeto, visto que não foram observadas implicações éticas que impeçam a realização do mesmo.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Faz-se necessário apresentar Relatório Anual - previsto para julho de 2018. A COEP deverá ser informada de fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo, devendo o pesquisador apresentar justificativa, caso o projeto venha a ser interrompido e/ou os resultados não sejam publicados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Recurso do Parecer	recurso.pdf	15/06/2017 09:31:07		Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Recurso_CEP14062017.pdf	15/06/2017 09:30:37	DANIEL ALEXANDRE	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_atualizado.pdf	15/06/2017 09:26:00	DANIEL ALEXANDRE	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_831880.pdf	31/03/2017 15:33:54		Aceito
Folha de Rosto	envio_projeto_PlataformaBrasil_NOVO.pdf	31/03/2017 15:30:49	DANIEL ALEXANDRE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoAgudoCronicoFAPERJENVELHECIMENTOFINAL.docx	24/11/2016 16:52:00	DANIEL ALEXANDRE BOTTINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE.doc	24/11/2016 16:03:37	DANIEL ALEXANDRE	Aceito

Endereço: Rua São Francisco Xavier 524, BL E 3ºand. SI 3018  
 Bairro: Maracanã CEP: 20.559-900  
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
 Telefone: (21)2334-2180 Fax: (21)2334-2180 E-mail: etica@uerj.br

UERJ - UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO;



Continuação do Parecer: 2.166.110

Justificativa de Ausência	TCLE.doc	24/11/2016 16:03:37	DANIEL ALEXANDRE	Aceito
Orçamento	orcamento.docx	24/11/2016 16:01:51	DANIEL ALEXANDRE	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaopesquisadores.docx	24/11/2016 16:01:26	DANIEL ALEXANDRE	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracao_instituicao.docx	24/11/2016 15:59:42	DANIEL ALEXANDRE BOTTINO	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	24/11/2016 15:56:47	DANIEL ALEXANDRE	Aceito
Brochura Pesquisa	CAPA_brochura.docx	24/11/2016 15:56:05	DANIEL ALEXANDRE	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIO DE JANEIRO, 10 de Julho de 2017

Assinado por:

Patricia Fernandes Campos de Moraes  
(Coordenador)

Endereço: Rua São Francisco Xavier 524, BL E 3ºand. SI 3018  
Bairro: Maracanã CEP: 20.559-900  
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
Telefone: (21)2334-2180 Fax: (21)2334-2180 E-mail: etica@uerj.br

ANEXO C – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

CÓDIGO DO PACIENTE \_\_\_\_\_

## **FORMULÁRIO DE INFORMAÇÃO AO VOLUNTÁRIO**

“Documento elaborado por aplicação das recomendações da Declaração de Helsinki”

### **EXERCÍCIO COM RESTRIÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO E FUNÇÃO VASCULAR**

O Prof. Dr. Ricardo Brandão de Oliveira me propôs participar de um estudo de pesquisa organizado pelo Laboratório de Atividade Física e Promoção da Saúde (LABSAU) e pelo Laboratório de Pesquisas Clínicas e Experimentais em Biologia Vascular (BIOVASC), ambos da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

#### **1. OBJETIVOS DO ESTUDO**

O objetivo do presente estudo é verificar os efeitos agudos do exercício físico realizado com diferentes níveis de restrição do fluxo sanguíneo sobre a função, dano e reparo dos vasos do sangue de jovens e idosos.

#### **2. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO**

A duração total de sua participação nesse estudo será de 4 dias. Na primeira visita você será atendido no LABSAU do Instituto de Educação Física e Desportos (IEFD) (Endereço: Pavilhão João Lira Filho, 8º andar, Bloco F, sala 8121, Rua São Francisco Xavier 524, Maracanã), por profissionais de educação física, onde serão explicados os objetivos do presente estudo proposto e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Serão feitos os seguintes procedimentos: avaliação antropométrica básica, teste de força de preensão

manual, exercício de preensão manual, medidas de frequência cardíaca e pressão arterial. Na segunda, terceira e quarta visitas você será atendido no BIOVASC (Endereço: Pavilhão Reitor Haroldo Lisboa da Cunha, térreo. Rua São Francisco Xavier 524, Maracanã), por profissionais de educação física e enfermeira, onde serão feitos os seguintes procedimentos: medidas de frequência cardíaca e pressão arterial, exercício de preensão manual, exame de sangue e da microcirculação por pletismografia de oclusão venosa.

### OBSERVAÇÕES

A pletismografia de oclusão venosa medirá o fluxo de sangue da artéria braquial do braço esquerdo com uso de manguitos de pressão e uso de nitroglicerina sublingual. No exame de sangue será retirado sangue venoso, antes e após o exercício de preensão manual, para avaliação de hormônios e inflamação, após 4 horas de jejum. O exercício será realizado com uma das mãos (preensão manual) até a sua exaustão. Um lanche será fornecido após realização dos exames que necessitem de jejum prévio.

### 3. BENEFÍCIOS E RISCOS POTENCIAIS

Alguns efeitos adversos, embora pouco frequentes, são descritos durante a realização de alguns exames e testes:

- (1) Teste de força de preensão manual – o teste pode, em algumas pessoas, causar desconforto muscular tardio (horas ou dias após a sua realização).
- (2) Oclusão vascular por manguito de pressão – a oclusão vascular pode, em algumas pessoas, causar desconforto momentâneo e também hematomas.
- (3) É possível que ocorra a perda do acesso venoso durante o protocolo experimental, sendo necessária a realização de um novo acesso.

(4) Prática de exercícios de força de preensão manual – os participantes farão exercícios de preensão manual no BIOVASC com a supervisão contínua de profissionais de educação física. A presença de qualquer desconforto produzirá interrupção do exercício físico imediatamente.

(5) Pletismografia de Oclusão Venosa – a colocação de nitroglicerina sublingual pode causar dores de cabeça e hipotensão arterial. Observação: Os pacientes serão acompanhados durante os exames de pletismografia por equipe composta por médico e técnico de enfermagem para atendimento de eventuais intercorrências.

#### 4. DESCONTINUAÇÃO VOLUNTÁRIA DO ESTUDO

Você terá o direito de deixar de ser voluntário do projeto em qualquer fase, sem ser obrigado a dar maiores explicações.

#### 5. PROTEÇÃO DO VOLUNTÁRIO E ÉTICA

Este estudo será realizado de acordo com os princípios estabelecidos na Declaração de Helsinki e emendas subsequentes (2000) e de acordo com as Boas Práticas Médicas (ICH/E6). O protocolo do estudo já foi aprovado pelo Comitê de Ética da UERJ. Se você tiver qualquer dúvida sobre este estudo, por favor entre em contato com o pesquisador responsável pelo estudo, Prof. Dr. Ricardo Brandão de Oliveira, no telefone (21) 2334-0775.

Pesquisador responsável pelo Projeto de Pesquisa

Prof. Dr. Ricardo Brandão de Oliveira (LABSAU)

Execução do Projeto de Pesquisa

Prof. Dr. Ricardo Brandão de Oliveira (LABSAU)

Prof. Dr. Daniel Alexandre Bottino (BIOVASC)

Profa. Dra. Karynne Grutter Lisboa Lopes dos Santos (FISCLINEX)

Prof. Msc. Gustavo Gonçalves Cardozo (Doutorando PPGCEE-UERJ)

Prof. Matheus Ramos (Iniciação científica)

Maria Aparecida Faria de Oliveira – Técnica de Enfermagem (BIOVASC)

**SESSÃO DO INVESTIGADOR (para ser preenchida pelo investigador)**

Nome:.....

Pessoa para Contato: Ricardo Brandão de Oliveira, no telefone (21) 2334-0775.

Eu confirmo que tenha explicado o experimento em detalhes para o paciente. Eu informei a ele o formulário informativo e respondi todas as suas dúvidas relacionadas ao estudo.

Ass.:.....Data: .....

**SESSÃO DO VOLUNTÁRIO (para ser preenchida pelo voluntário)**

Nome:.....

Endereço:.....

.....Telefone: .....

Eu recebi, li e entendi o formulário informativo para o estudo designado acima. Eu também recebi explicações adequadas sobre o estudo clínico, seus propósitos, riscos, meus direitos como voluntario e o que terei de fazer e me submeter. Foram-me dadas todas as oportunidades de perguntar qualquer coisa antes de tomar qualquer decisão. Eu poderei necessitar de informações adicionais a qualquer momento do investigador. Eu sei que minha decisão de participar deste estudo só depende de mim mesmo, e que tenho o direito de mudar de idéia a qualquer momento durante o curso do estudo sem que isso venha afetar meu tratamento no futuro. Eu entendi que o experimento ou a minha participação nele podem ser interrompidas a qualquer momento pelo investigador. Eu também entendi que o acesso a



informações relevantes sobre meus dados como paciente podem ser requeridas como parte do estudo e que dados coletados durante o estudo poderão ser checados pelas autoridades de saúde e por representantes do patrocinador de acordo com a legislação vigente. Estou ciente de que meu anonimato será preservado mesmo que o acesso aos dados coletados seja autorizado e de que todos os meus dados pessoais serão processados com a mais estrita confidencialidade. Os dados registrados durante o estudo serão processados por computador e eu entendo que terei o direito, caso queira, de acesso aos dados computadorizados. Eu recebi uma cópia deste documento e fui informado que uma cópia será mantida confidencialmente pelo patrocinador do estudo. Sendo assim, eu dou meu consentimento para fazer parte deste estudo.

Assinatura:.....

Datado pelo voluntário:.....

**ANEXO D - Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) versão curta**

**QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA (IPAQ) VERSÃO CURTA**

Nome: \_\_\_\_\_ ID \_\_\_\_\_

As perguntas abaixo estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim.

Para responder as questões lembre-se que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez.

**1a** Em quantos dias da última semana você **CAMINHOU** por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício? Dias \_\_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**1b** Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando **por dia**?

Horas: \_\_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

**2a** Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer

ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar **moderadamente** sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**) Dias \_\_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**2b** Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**?

Horas: \_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

**3a** Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração. Dias \_\_\_\_\_ por **SEMANA** ( ) Nenhum

**3b** Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**? Horas: \_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

**4a** Quanto tempo no total você gasta sentado durante um **dia de semana**?

Horas: \_\_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

**4b** Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um **dia de final de semana**?

Horas: \_\_\_\_\_ Minutos: \_\_\_\_\_

**ANEXO E – Fichas de condições prévias aos exames****CONDIÇÕES PRÉVIAS AOS EXAMES NO BIOVASC**

- Não praticar atividade física no dia anterior ao exame;
- Não deixar de tomar os medicamentos de uso contínuo.
- Jejum de 8 horas antes do exame.

Seu exame está marcado para \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_ às \_\_\_\_\_ horas. Portanto, o jejum deve começar às \_\_\_\_\_ horas. Obrigado pela participação!

Laboratório de Pesquisas Clínicas e Experimentais em Biologia Vascular (BIOVASC)

Endereço: Pavilhão Reitor Haroldo Lisboa da Cunha, sala 104. Rua São Francisco Xavier 524, Maracanã

---

## ANEXO F – Fichas de anotações sobre os voluntários

**PLETISMOGRAFIA DE OCLUSÃO VENOSA – Projeto Agudo**

Nome \_\_\_\_\_

ID \_\_\_\_\_ Data da coleta \_\_\_\_\_

Data de nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Estatura \_\_\_\_\_ Massa \_\_\_\_\_

1RM \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ e \_\_\_\_\_ 30 % de 1RM \_\_\_\_\_

Pressão arterial: Medida 1 \_\_\_\_\_ e Medida 2 \_\_\_\_\_

Nível de pressão da sessão experimental: \_\_\_\_\_

Visita 1 ( ) Visita 2 ( ) Visita 3 ( )

Protocolo da sessão: ( ) RFS ( ) Oclusão Vascular ( ) Controle

Temperatura da sala \_\_\_\_\_

**Avaliação Inicial (Pré exercício)**

	PAS X PAD (mmHg)	PAM (mmHg)	FC (bpm)
Medidas iniciais			
Q-basal 1			
Q-hiper			
Q-basal 2			
Q-nitro			

**Avaliação Pós-exercício 1 (0 min)**

	PAS X PAD (mmHg)	PAM (mmHg)	FC (bpm)
Q-basal 1			
Q-hiper			

**Avaliação Pós-exercício 2 (30 min)**

	PAS X PAD (mmHg)	PAM (mmHg)	FC (bpm)
Q-basal 1			
Q-hiper			

	Q-basal 1	Q-hiperemia	Q-basal 2	Q-nitroglicerina
--	-----------	-------------	-----------	------------------

	(ml/min/100ml)	(ml/min/100ml)	(ml/min/100ml)	(ml/min/100ml)
1ª Curva				
2ª Curva				
3ª Curva				
4ª Curva				
5ª Curva				
6ª Curva				
7ª Curva				

	Q-basal 1 (0 min)	Q-hiper (0 min)	Q-basal 1 (30 min)	Q-hiper (30 min)
1ª Curva				
2ª Curva				
3ª Curva				
4ª Curva				
5ª Curva				
6ª Curva				
7ª Curva				

**APÊNDICE A - Dados demográficos dos voluntários**

	VOL1	VOL2	VOL 3	VOL 4	VOL 5	VOL 6	VOL 7	VOL 8	VOL 9	VOL10	VOL11	VOL12
Idade (anos)	24	20	21	19	19	21	20	23	18	24	21	22
Peso (kg)	77,4	85,3	61	76	59,5	67,3	81,2	72	68	71	65,6	87,3
Estatura (m)	1,79	1,89	1,68	1,75	1,79	1,69	1,82	1,85	1,79	1,69	1,74	1,87
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,3	24	21,6	24,8	18,6	23,6	24,5	21	21,2	24,9	21,7	25
1RM (kgf)	26	27,7	17,3	21,4	19,5	31,5	40,2	31,3	19,8	31,4	28,4	27,8
30% 1RM (kgf)	7,8	8,3	5,2	6,4	5,8	9,5	12,1	9,4	5,9	9,4	8,5	8,3
PAS (mmHg)	116	134	115	133	114	114	122	120	120	113	113	128
PAD (mmHg)	71	74	72	75	81	41	70	65	76	63	68	78
80% PAO (mmHg)	92,8	107,2	92	106,4	91,2	91,2	97,6	96	96	90,4	90,4	102,4
120% PAO (mmHg)	139,2	160,8	138	159,6	136,8	136,8	146,4	144	144	135,6	135,6	153,6

Legenda: VOL – voluntário; IMC – índice de massa corporal; RM – Repetição Máxima; PAS – Pressão arterial sistólica; IMC – Índice de Massa Corporal; 1RM – Repetição máxima; PAD – Pressão arterial diastólica; PAO – Pressão Arterial Oclusão

**APÊNDICE B - Dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExRFS**

	VOL1	VOL2	VOL3	VOL4	VOL5	VOL6	VOL7	VOL8	VOL9	VOL10	VOL11	VOL12
<i>Variáveis Hemodinâmicas</i>												
FC (bpm)	52	64	46	69	73	69	52	66	52	59	51	61
PAS (mmHg)	116	134	123	127	114	117	128	133	109	106	108	128
PAD (mmHg)	71	74	77	76	74	48	69	68	68	65	64	78
PAM (mmHg)	86	94	92	93	87	71	89	90	82	79	79	95
<i>Fluxo sanguíneo (pré-exercício)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	1,56	2,59	1,11	2,05	1,55	2,29	2,49	2,19	0,81	2,01	0,72	3,01
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	16,62	14,89	10,30	13,29	20,85	26,40	10,78	19,90	21,42	15,97	19,26	14,50
FSA basal 2 (ml/min/100ml)	0,92	1,74	1,07	1,56	1,28	3,74	1,66	2,36	1,75	1,66	2,75	2,36
FSA nitroglicerina (ml/min/100ml)	0,93	1,44	0,89	2,90	1,85	3,06	3,19	4,01	0,80	1,84	1,01	2,27
<i>Fluxo sanguíneo (pós exercício - 0 min)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	4,48	4,93	5,61	6,69	4,20	9,98	3,83	6,42	7,66	4,46	1,94	8,73
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	17,97	15,62	11,38	22,63	22,35	22,10	7,10	14,97	18,16	12,80	15,26	11,60
<i>Fluxo sanguíneo (pós exercício - 30 min)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	1,20	0,76	1,49	3,37	0,90	2,68	1,50	2,30	1,03	0,59	0,88	3,67
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	18,23	18,33	9,13	22,24	21,30	25,83	11,06	14,71	18,93	11,21	11,39	15,13

Legenda: VOL – voluntário; FC – Frequência cardíaca; PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – pressão arterial diastólica; PAM – pressão arterial média; FSA – Fluxo sanguíneo do antebraço;



**APÊNDICE C - Dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExPAO**

	VOL1	VOL2	VOL3	VOL4	VOL5	VOL6	VOL7	VOL8	VOL9	VOL10	VOL11	VOL12
<i>Variáveis Hemodinâmicas</i>												
FC (bpm)	50	71	52	79	72	65	58	88	54	72	61	76
PAS (mmHg)	120	127	113	133	115	104	111	134	117	134	116	132
PAD (mmHg)	76	80	65	75	72	39	65	78	70	74	68	78
PAM (mmHg)	91	96	81	94	86	61	80	97	86	94	84	96
<i>Fluxo sanguíneo (pré-exercício)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	1,68	1,59	1,33	3,27	1,82	1,86	1,79	1,91	1,81	1,76	1,20	4,10
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	16,93	21,23	9,64	12,23	24,26	15,12	15,00	18,16	21,13	17,91	21,48	13,33
FSA basal 2 (ml/min/100ml)	1,10	1,84	1,17	2,21	2,30	1,74	2,14	2,48	1,89	1,20	0,82	2,41
FSA nitroglicerina (ml/min/100ml)	1,40	1,94	1,66	1,74	2,95	1,80	3,08	2,49	4,52	1,90	1,30	2,23
<i>Fluxo sanguíneo (pós exercício - 0 min)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	6,79	5,62	6,12	4,77	10,13	5,77	4,11	6,47	6,35	4,42	5,49	6,23
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	12,22	11,31	12,04	8,22	19,17	17,28	7,12	15,39	17,52	9,51	18,40	9,19
<i>Fluxo sanguíneo (pós exercício - 30 min)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	1,56	1,19	0,79	3,48	3,22	1,61	1,57	2,60	1,51	3,08	1,70	2,46
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	18,45	16,29	10,99	13,03	15,98	26,81	14,95	19,44	17,99	10,92	14,18	16,76

Legenda: VOL – Voluntário; FC – Frequência cardíaca; PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; PAM – Pressão arterial média; FSA – Fluxo sanguíneo do antebraço.

**APÊNDICE D -** Dados brutos da pletismografia de oclusão venosa de ExCON

	VOL1	VOL2	VOL3	VOL4	VOL5	VOL6	VOL7	VOL8	VOL9	VOL10	VOL11	VOL12
<i>Variáveis Hemodinâmicas</i>												
FC (bpm)	56	60	45	82	72	60	60	54	55	61	52	81
PAS (mmHg)	117	132	106	120	102	116	116	124	122	115	114	133
PAD (mmHg)	78	70	63	65	57	65	68	68	71	67	70	81
PAM (mmHg)	91	91	77	83	72	82	84	87	88	83	85	98
<i>Fluxo sanguíneo (pré-exercício)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	2,87	2,00	1,38	3,92	2,27	0,59	2,03	2,66	1,82	4,11	0,89	3,62
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	18,88	18,35	9,45	16,99	26,92	10,70	20,99	23,69	15,65	25,67	11,12	11,84
FSA basal 2 (ml/min/100ml)	1,96	1,10	0,83	3,86	2,00	0,53	1,87	1,86	1,45	1,82	1,63	2,12
FSA nitroglicerina (ml/min/100ml)	2,00	2,01	1,65	4,77	1,54	0,60	1,91	1,85	2,02	1,65	0,87	2,17
<i>Fluxo sanguíneo (pós exercício - 0 min)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	5,25	2,15	5,78	6,16	8,88	6,12	4,98	3,65	1,79	4,41	4,50	16,28
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	11,31	9,78	7,23	9,25	20,16	17,28	21,56	16,16	10,12	19,16	14,93	17,92
<i>Fluxo sanguíneo (pós exercício - 30 min)</i>												
FSA basal 1 (ml/min/100ml)	3,52	0,71	1,40	3,47	7,03	2,40	1,98	2,14	1,54	2,35	2,64	3,87
FSA hiperemia (ml/min/100ml)	15,91	10,39	7,51	6,78	24,19	15,46	22,60	17,05	9,85	21,60	13,22	15,80

Legenda: VOL – voluntário; FC – Frequência cardíaca; PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; PAM – Pressão arterial média; FSA – Fluxo sanguíneo do antebraço.