

# Efeito do Exercício Físico e do Polimorfismo T-786C na Pressão Arterial e no Fluxo Sanguíneo de Idosas

*Effect of Physical Activity and T-786C Polymorphism in Blood Pressure and Blood Flow in the Elderly*

Anderson Saranz Zago<sup>1</sup>, Eduardo Kokubun<sup>2</sup>, Nicola Fenty-Stewart<sup>3</sup>, Joon-Young Park<sup>3</sup>, Selasi Attipoe<sup>4</sup>, James Hagberg<sup>4</sup>, Michael Brown<sup>3</sup>

Escola de Educação Física e Esportes - USP, Ribeirão Preto<sup>1</sup>; Departamento de Educação Física - UNESP, Rio Claro<sup>2</sup>, SP - Brasil; Department of Kinesiology - Temple University, Philadelphia<sup>3</sup>; Department of Kinesiology - University of Maryland, College Park<sup>4</sup> - USA

## Resumo

**Fundamento:** O polimorfismo T-786C do gene da sintetase do óxido nítrico endotelial (eNOS) e a produção de ânion superóxido podem diminuir a produção e biodisponibilidade do óxido nítrico, comprometendo o grau de vasodilatação, podendo este efeito ser revertido pelo exercício físico.

**Objetivo:** Investigar a influência do treinamento aeróbico e do polimorfismo T-786C nas concentrações dos metabólitos do óxido nítrico (NOx), no fluxo sanguíneo (FS) e na pressão arterial (PA).

**Métodos:** Trinta e duas idosas pré-hipertensas ( $59 \pm 6$  anos) foram separadas em dois grupos de acordo com o polimorfismo T-786C (TT e TC+CC). Foram analisadas as concentrações de NOx (plasma) e fluxo sanguíneo por pletismografia de oclusão venosa em repouso, 1, 2 e 3 minutos pós-oclusão (FS-0, FS-1, FS-2, FS-3, respectivamente). As avaliações foram realizadas antes e após 6 meses de um programa de exercício aeróbico.

**Resultados:** Nas avaliações pré-treinamento, os níveis de NOx foram menores no grupo TC+CC em relação ao grupo TT. O grupo TT apresentou correlações entre NOx e FS-0 ( $r = 0,6$ ) e pressão arterial diastólica (PAD) e FS-0 ( $r = -0,7$ ), porém nenhuma correlação foi encontrada no grupo TC+CC. Nas avaliações pós-treinamento, ocorreram correlações entre NOx e FS-0 ( $r = 0,6$ ) e nas mudanças do NOx e PAD ( $r = -0,6$ ) no grupo TT. Também foram obtidas correlações entre PAD e FS-1 ( $r = -0,8$ ), PAD e FS-2 ( $r = -0,6$ ), PAD e FS-3 ( $r = -0,6$ ), nas mudanças entre NOx e FS-1 ( $r = 0,8$ ) e mudanças do NOx e PAD ( $r = -0,7$ ) no grupo TC+CC.

**Conclusão:** Conclui-se que 6 meses de exercício aeróbico podem contribuir para aumentar as relações existentes entre NO, PA e FS em idosas portadoras do alelo C. (Arq Bras Cardiol. 2010; [online]. ahead print, PP.0-0)

**Palavras-chave:** Óxido nítrico, superóxido dismutase, exercício, pressão arterial, idoso, polimorfismo genético.

## Abstract

**Background:** The T-786C polymorphism of the gene for endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and superoxide anion production may reduce production and bioavailability of nitric oxide, affecting the degree of vasodilation. This effect can be reversed by exercise.

**Objective:** To investigate the influence of aerobic training and T-786C polymorphism in the concentrations of nitric oxide metabolites (NOx) in blood flow (BF) and blood pressure (BP).

**Methods:** Thirty-two elderly pre-hypertensive women ( $59 \pm 6$  years old) were divided into two groups according to the T-786C polymorphism (TT and TC + CC). We analyzed the concentrations of NOx (plasma) and blood flow by venous occlusion plethysmography at rest, 1, 2 and 3 minutes post-occlusion (BF-0, BF-1 BF-2 BF-3, respectively). Evaluations were performed before and after 6 months of a program of aerobic exercise.

**Results:** In the pre-training evaluations, NOx levels were lower in TC + CC group than in TT group. The TT group showed correlations between NOx and BF-0 ( $r = 0.6$ ) and diastolic blood pressure (DBP) and BF-0 ( $r = -0.7$ ), but no correlation was found in TC + CC group. In the post-training evaluations, there were correlations between NOx and BF-0 ( $r = 0.6$ ) and the changes in NOx and DBP ( $r = -0.6$ ) in TT group. There were also correlations between DBP and BF-1 ( $r = -0.8$ ), DBP, and BF-2 ( $r = -0.6$ ), DBP, and BF-3 ( $r = -0.6$ ), in the changes between NOx and BF-1 ( $r = 0.8$ ) and changes in NOx and DBP ( $r = -0.7$ ) in TC + CC group.

**Conclusion:** It was concluded that 6 months of aerobic exercise can increase the relationship between NO, BP and BF in elderly of allele C carriers. (Arq Bras Cardiol. 2010; [online]. ahead print, PP.0-0)

**Key words:** Nitric oxide; superoxide dismutase; exercise; blood pressure; aged; polymorphism, genetic.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Anderson Saranz Zago •

Av. Bandeirantes, 3900 - Monte Alegre - 14040-900 - Ribeirão Preto, SP - Brasil

E-mail: aszago@usp.br

Artigo recebido em 18/05/09; revisado recebido em 26/01/10; aceito em 12/04/10.

## Introdução

O óxido nítrico (NO) produzido pela sintetase do óxido nítrico endotelial (eNOS) possui uma importante função no controle cardiovascular, especialmente para a vasodilatação<sup>1,2</sup>. Quando a eNOS é ativada, o metabolismo da L-arginina é aumentado gerando a formação de L-citrulina e de NO pelas células endoteliais<sup>3-5</sup>. Uma vez produzido, o NO migra para a célula muscular lisa vascular gerando um aumento da atividade da guanilato ciclase, culminando na diminuição de cálcio e no relaxamento da musculatura lisa vascular<sup>5,6</sup>.

No vaso sanguíneo, dentre os mecanismos envolvidos na manutenção das concentrações adequadas de NO, podem-se destacar a atividade da eNOS e a biodisponibilidade de NO<sup>7-12</sup>.

A atividade da eNOS pode ser geneticamente determinada e alguns polimorfismos têm sido identificados como potenciais candidatos para o desenvolvimento da hipertensão arterial<sup>9</sup>. Por exemplo, o alelo C do polimorfismo T-786C da região promotora do gene da eNOS tem sido capaz de diminuir a atividade promotora e transcripcional desse gene, reduzindo a produção de NO<sup>7,13</sup>.

A biodisponibilidade de NO está estreitamente relacionada com a produção de ânion superóxido ( $O_2^-$ ) produzido pelo endotélio, camada adventícia e célula muscular lisa vascular<sup>1,14-18</sup>. Tanto fatores físicos quanto humorais, como por exemplo o *shear stress*, podem modular a atividade da NAD(P)H oxidase e induzir a produção de  $O_2^-$ <sup>12,19</sup>. O aumento de  $O_2^-$  no sistema cardiovascular pode gerar uma disfunção endotelial e um aumento da contratilidade vascular<sup>2,12</sup>. Quando produzido em excesso, os  $O_2^-$  reagem com o NO produzindo peroxinitrite (ONOO<sup>-</sup>), diminuindo a biodisponibilidade do NO<sup>2</sup>.

Contrapondo-se aos efeitos de ambos os mecanismos (polimorfismos do gene da eNOS e da produção de  $O_2^-$ ), o exercício aeróbico tem sido apontado como um dos principais estímulos para combater tais disfunções endoteliais<sup>2,19,20</sup>. O *shear stress* induzido pelo aumento do fluxo sanguíneo, especialmente durante a realização de exercícios físicos, pode beneficiar o mecanismo de controle cardiovascular em praticamente dois mecanismos. Primeiro, pelo aumento da expressão da eNOS e, conseqüentemente, da produção de NO, e segundo, pela produção da enzima superóxido dismutase extracelular (ecSOD), que possui a capacidade de reagir com os  $O_2^-$ , aumentando potencialmente a disponibilidade de NO para a célula muscular lisa vascular<sup>11,20</sup>.

De tal forma, o exercício físico pode regular a vasodilatação mediada pelo NO diminuindo os valores de pressão arterial na maioria dos indivíduos hipertensos<sup>2</sup>. Contudo, ainda existem controvérsias entre os estudos com relação aos efeitos benéficos do exercício físico no aumento das concentrações de NO e na resposta vasodilatadora em indivíduos portadores do polimorfismo do gene da eNOS<sup>11</sup>.

Assim, o objetivo deste estudo foi investigar a influência que o exercício físico regular e o polimorfismo T-786C do gene da eNOS teriam nos níveis circulantes dos metabólitos do NO (NOx), na atividade da ecSOD, no fluxo sanguíneo (FS) e na pressão arterial (PA) de mulheres idosas pré-hipertensas.

## Materiais e métodos

### Participantes

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da *University of Maryland College Park/USA* e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências/CEP-IB-UNESP.

Em sua primeira visita ao laboratório, todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Participaram 32 mulheres aparentemente saudáveis, entre 50-70 anos, sedentárias, pré-hipertensas (sem uso de medicação), não diabética e não fumante. As mulheres com sobrepeso e obesidade (IMC > 37 kg/m<sup>2</sup>) foram eliminadas do estudo para se evitar a interferência destas variáveis nos resultados deste estudo.

As participantes foram divididas em dois grupos conforme o resultado da análise do polimorfismo do gene da eNOS, sendo classificadas como TT e TC+CC. As mulheres no período de pós-menopausa (83,0% do total das participantes), que faziam uso de terapia de reposição hormonal (45,0% das participantes), mantiveram as medicações durante o estudo.

### Procedimentos

Todos os participantes realizaram o teste de Bruce em esteira com eletrocardiograma para a detecção de doença cardiovascular, conforme descrito previamente<sup>21</sup>. Um registro de dieta foi realizado e os participantes foram instruídos a manter a fase 1 da dieta do *American Heart Association (AHA)*, com estabilidade do peso a pelo menos 3 semanas, conforme descrito previamente<sup>22</sup>. Todos os testes básicos foram realizados antes e após 6 meses de um programa de treinamento físico e a diferença entre as avaliações pré e pós (pós - pré = diferença) também foi utilizada para fins de verificar a eficácia do treinamento em cada variável estudada.

### Testes básicos

As avaliações compreenderam os testes de consumo máximo de oxigênio ( $VO_2$ max), fluxo sanguíneo (FS), pressão arterial (PA) e coleta sanguínea.

*Consumo máximo de oxigênio ( $VO_2$ max)* - O  $VO_2$ max foi determinado pelo teste de exaustão voluntária, através de um sistema de calorimetria indireta (modelo 2300, Hans Rudolph, Inc., Kansas City, Missouri) e analisador de gases (modelo 1100, Perkin Elmer, Inc., Danbury, Connecticut) conectados a um computador. O  $VO_2$ max foi determinado quando dois dos três critérios fossem alcançados: troca respiratória > 1,1; Frequência cardíaca > 220 - idade; e um aumento maior do que 150 ml min<sup>-1</sup> no  $VO_2$ , durante os dois últimos minutos de teste<sup>23</sup>. Durante o teste, a frequência cardíaca (FC), PA e o eletrocardiograma foram monitorados.

*Fluxo sanguíneo* - Todos os participantes foram conduzidos ao laboratório entre as 07:00 e 9:00 horas após um jejum de 12 horas. Os participantes permaneceram em repouso, na posição deitada por 15 minutos, e o fluxo sanguíneo foi medido no antebraço não dominante usando-se a técnica de pletismografia de oclusão venosa. Resumidamente, usando um inflador automático, um pequeno manguito foi inflado ao redor do punho e um manguito maior ao redor do braço (úmero) a

180 mmHg e 55 mmHg, respectivamente. Para criar a isquemia do braço, o manguito foi inflado a 50 mmHg acima da pressão arterial sistólica de repouso, sendo mantida por 5 minutos. Após esse período de isquemia, o manguito do punho foi inflado novamente e o do braço foi inflado a 55 mmHg, a cada minuto<sup>24</sup>. Tem sido mostrado que o tecido possui a capacidade de se recuperar da isquemia em três minutos e que o pico de vasodilatação ocorre em aproximadamente um minuto após a liberação do manguito<sup>24,25</sup>. Assim, o FS foi medido no repouso (FS-0) e um, dois e três minutos de hiperemia reativa (FS-1, FS-2 e FS-3, respectivamente), após os 5 minutos de isquemia. A FC e a PA foram medidas simultaneamente no outro braço. A resistência vascular (RV) do braço foi calculada com a média da PA dividida pelo FS.

**Pressão arterial casual** - As PA sistólica e PA diastólica (PAS e PAD) foram medidas após 15 minutos de repouso na posição sentado, em três dias separados de acordo com o JNC 7 guidelines<sup>26</sup>. A média das três medidas foi considerada para fins de análise de dados.

**Análise sanguínea** - As amostras sanguíneas foram coletadas em tubos heparinizados para a análise da atividade da ecSOD, e em tubos contendo EDTA para análise das concentrações dos metabólitos do NO (NOx), após um jejum de 12 horas, sendo centrifugadas a 2.000 rpm, a 4°C e por 20 minutos. O supernadante plasmático foi imediatamente transferido para *ependorfs* e congelados a -80°C para análise posterior.

**Concentração dos metabólitos de NO** - O plasma foi ultrafiltrado e os metabólitos do óxido nítrico (NOx) foram analisados por ensaio de Greiss (análise das concentrações de nitrito após conversão de nitrito para nitrito), conforme descrito previamente<sup>21,27</sup>. As amostras foram analisadas em duplicatas e a média entre elas foi considerada para fins de análise estatística. Os coeficientes de variação intra e inter foram de 3,3% e 4,9%, respectivamente.

**Atividade da ecSOD** - A atividade da ecSOD plasmática foi medida através de kits comerciais da *Cayman Chemicals* (Ann Arbor, MI). As amostras foram analisadas em duplicatas e a média entre elas foi considerada para fins de análise estatística. Os coeficientes de variação intra e inter foram de 22,0% e 7,0%, respectivamente.

**Análise genética** - O DNA dos participantes foi isolado dos leucócitos utilizando o *kit* da *PureGene* (Gentra System, Minneapolis, MN). O polimorfismo T-786C do gene da eNOS foi detectado através de reações em cadeia de polimerase (PCR), utilizando-se os seguintes *primers*: F:5'-CACCCAGGCCACCCCAACT-3' and R:5'-GCCGACGTCGACAGAGACT-3'. O DNA foi desnaturado por 5 minutos a 95°C, seguido de 35 ciclos de desnaturação (30s, 95°C), anelamento (15s, 54°C) e extensão (30s, 72°C). O produto do PCR foi digerido pela enzima *MspI* a 37°C, seguido de 4 horas em gel de agarose a 2,0%. O alelo T produz um fragmento de 415 bp, o alelo C produz fragmentos de 370 bp e 45 bp.

Os portadores do alelo C foram agrupados em um mesmo grupo (TC+CC) sendo comparados com o grupo TT. A frequência do genótipo TT e TC+CC na população é de aproximadamente 32,0% e 68,0%, respectivamente<sup>28-31</sup>. O alelo C é considerado capaz de gerar efeitos deletérios

no sistema cardiovascular e ambos os genótipos (TC e CC) demonstram respostas similares, diferentemente do genótipo TT<sup>13,29</sup>. Dessa forma, é apropriado agrupar ambos os genótipos TC e CC em um mesmo grupo para análise deste estudo.

### Treinamento físico aeróbico

Todos os participantes realizaram um programa supervisionado de exercícios físicos aeróbico, em esteira ergométrica, durante 6 meses, três vezes por semana, com intensidade progressiva durante as semanas. Com aquecimento e relaxamento apropriados, a sessão inicial consistiu de 20 minutos de exercício aeróbico a 50,0% do  $VO_2$ max. A duração do treinamento foi aumentada 5 minutos por semana até atingir 40 minutos. A partir desse momento, a intensidade era aumentada em 5,0% do  $VO_2$ max a cada semana até atingir 70,0%. O controle da intensidade foi realizado através de monitores de frequência cardíaca.

Apenas os participantes que completaram 75,0% das sessões de treinamento foram incluídos nos resultados finais deste estudo.

### Análise estatística

Foi realizado uma análise descritiva para ambos os grupos (TT e TC+CC) e uma ANOVA *one-way* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos, levando-se em consideração o polimorfismo T-786C do gene da eNOS como variável independente e, como variável dependente, o IMC, a PA, a  $VO_2$ max, a NOx e a atividade da ecSOD. Uma ANOVA *two-way* foi realizada tendo como variável independente o genótipo e o exercício físico, e, como variável dependente, o FS, a PA e o IMC. A análise de correlação de Pearson também foi realizada objetivando detectar possíveis relações entre as variáveis analisadas neste estudo.

Todos os resultados foram expressos em média e erro padrão da média. O nível de significância foi de  $p < 0,05$ . Os dados foram analisados usando o pacote estatístico *SPSS 13.0*.

## Resultados

Trinta e duas mulheres pré-hipertensas foram divididos em dois grupos, de acordo com o polimorfismo T-786C do gene da eNOS (TT - 20 participantes e TC+CC - 12 participantes).

Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos nas variáveis PAS, PAD e IMC, antes e após o programa de exercício físico. O  $VO_2$ max aumentou significativamente em ambos os grupos, após o programa de exercício físico.

Os valores de IMC, PA e  $VO_2$ max de ambos os grupos estão sumarizados na Tabela 1.

Na avaliação pré-treinamento, os níveis de NOx foram estatisticamente diferentes ( $p < 0,03$ ) entre os grupos e, como esperado, o grupo TC+CC apresentou valores mais baixos com relação ao grupo TT (Figura 1-A). A atividade da ecSOD foi 30,0% menor no grupo TC+CC com relação ao grupo TT, mas esta diferença não apresentou-se estatisticamente significante (Figura 1-B).

Na avaliação pós-treinamento, o grupo TT manteve os valores plasmáticos de NOx do momento pré-treinamento,

**Tabela 1 - Características individuais para ambos os grupos antes e após 6 meses de um programa regular de exercício aeróbico**

	TT (n = 20)		TC+CC (n = 12)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Idade (anos)	60,2 ± 1,5	-	59,0 ± 2,0	-
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26,9 ± 0,8	26,0 ± 1,0	29,5 ± 0,9	28,4 ± 0,9
PAS (mmHg)	130,6 ± 2,5	131,1 ± 3,3	133,0 ± 5,5	130,1 ± 4,0
PAD (mmHg)	85,8 ± 1,6	85,9 ± 1,5	88,0 ± 2,9	86,7 ± 2,8
VO <sub>2</sub> max (ml/kg/min)	26,1 ± 1,2	28,4 ± 1,7*	25,2 ± 1,5	29,0 ± 1,7*

IMC - índice de massa corporal; PAS - pressão arterial sistólica; PAD - pressão arterial diastólica; VO<sub>2</sub>max - volume máximo de oxigênio. Valores expressos em média ± erro padrão da média. \*Diferença significativa entre pré e pós-treinamento ( $p < 0,05$ ).

enquanto que o grupo TC+CC teve um aumento nestes níveis. Após o programa de exercício físico (Figura 1-A), nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os grupos, ou seja, a diferença encontrada na avaliação pré-treinamento não permaneceu significativa após o treinamento físico.

Tanto na avaliação pré quanto na avaliação pós-programa de exercício físico, nenhuma diferença estatística foi observada entre os grupos na variável fluxo sanguíneo e na resistência vascular periférica. Embora tal resultado não tenha alcançado diferenças estatísticas, o grupo TC+CC apresentou valores maiores de fluxo sanguíneo comparado ao grupo TT na avaliação pré-treinamento, sugerindo uma menor taxa de recuperação ao fluxo sanguíneo (Figura 2-A). Na avaliação pós-treinamento, essa pequena diferença não foi percebida, apresentando ambos os grupos praticamente o mesmo resultado (Figura 2-B). Basicamente, a resistência vascular teve o mesmo comportamento do fluxo sanguíneo em relação a ambos os grupos e avaliações (Figura 2-C e 2-D).

A análise de correlação de Pearson encontrou, na avaliação

pré-treinamento para o grupo TT, correlações entre NOx e FS-0, também encontradas entre PAD e as variáveis de fluxo e resistência (FS-0, RV-0 e RV-1). Na avaliação pós-treinamento, houve correlações entre NOx e FS-0 e entre as mudanças da NOx e as mudanças na PAD. Para o grupo TC+CC, nenhuma correlação significativa foi encontrada na avaliação pré-treinamento, mas, na avaliação pós-treinamento, foram encontradas correlações entre PAD e FS-1, FS-2 e FS-3 e entre as mudanças na NOx e as mudanças no FS-1 e PAD. Todas as correlações encontradas estão resumidas na Tabela 2.

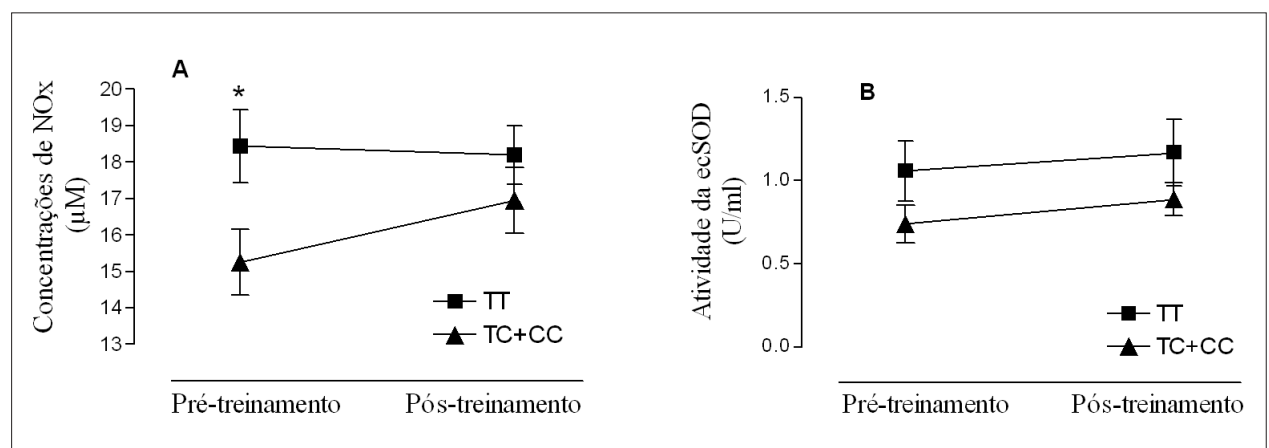
## Discussão

O presente estudo foi desenvolvido para avaliar o potencial efeito do polimorfismo T-786C do gene da eNOS e de 6 meses de um programa regular de exercício físico nas respostas hemodinâmicas de mulheres idosas pré-hipertensas.

O NO possui uma importante função no controle vascular, especialmente na vasodilatação. Tanto a atividade da eNOS quanto os mecanismos responsáveis pela biodisponibilidade do NO contribuem para a manutenção de uma adequada concentração de óxido nítrico no vaso sanguíneo, e ambos os mecanismos podem ser afetados pelo exercício físico.

Como esperado, após 6 meses de exercício aeróbio, o resultado do VO<sub>2</sub>max teve um aumento significativo para ambos os grupos, demonstrando que a intervenção aplicada possuiu estímulo suficiente para melhorar a capacidade aeróbica das participantes.

Na pressão arterial, tanto sistólica quanto diastólica, nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos e entre as avaliações pré e pós-treinamento. Diversos estudos têm evidenciado um efeito benéfico do exercício físico sobre a pressão arterial. Por exemplo, Hagberg e cols.<sup>32</sup> observaram que o exercício físico regular possui a capacidade de diminuir a PA em aproximadamente 75,0% dos indivíduos hipertensos e que o treinamento com intensidade moderada parece gerar maiores benefícios do que os de alta intensidade, para tais reduções. Higashi e cols.<sup>4</sup> observaram um efeito benéfico do exercício aeróbico regular nos valores de PA para indivíduos hipertensos.



**Fig. 1 -** Concentrações plasmáticas de NOx (A) e atividade da ecSOD (B) antes e após 6 meses de exercício aeróbico, entre idosas pré-hipertensas, subdivididas de acordo com o polimorfismo T-786C do gene da eNOS. \*Diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

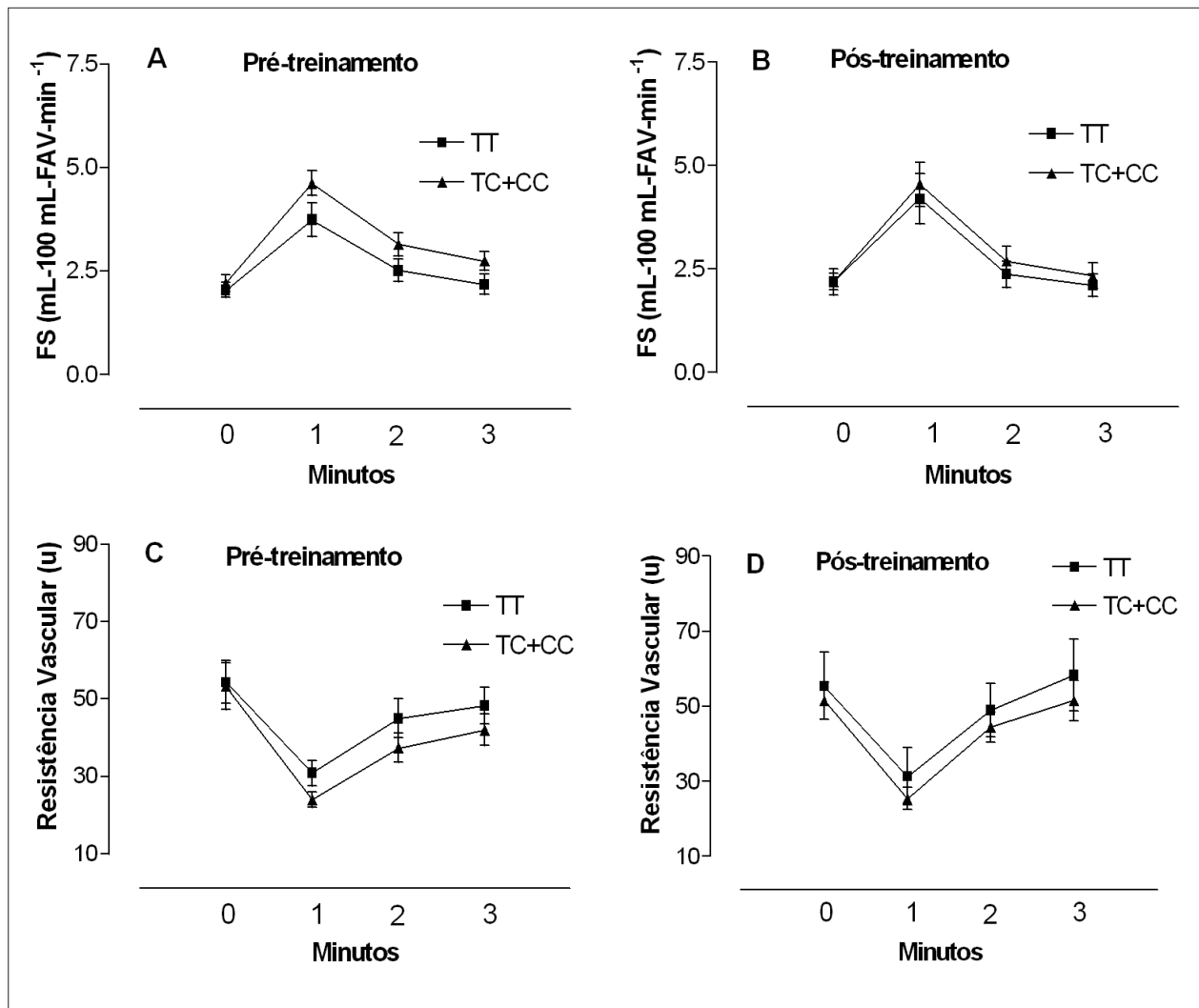


Fig. 2 - Fluxo sanguíneo (painel A e B) e resistência vascular (painel C e D) de repouso (0) e durante três minutos de hiperemia reativa em idosas pré-hipertensas, subdivididas de acordo com o polimorfismo T-786C do gene da eNOS, antes e após 6 meses de um programa aeróbico de exercício físico.

Cabe ressaltar, entretanto, que esses estudos fazem referência aos efeitos benéficos do exercício físico em indivíduos hipertensos, diferentemente do presente estudo, que utilizou indivíduos pré-hipertensos, fato que poderia justificar a ausência de diferenças nos valores de pressão arterial entre as avaliações pré e pós-treinamento físico.

O polimorfismo T-786C do gene da eNOS é potencialmente importante para o controle cardiovascular, pois tem sido relatado que a presença do alelo C diminui a expressão deste gene<sup>33</sup>. No presente estudo, os metabólitos do NO foram significativamente menores para o grupo TC+CC comparado com o grupo TT, na avaliação pré-treinamento. Tal resultado está em concordância com estudos prévios, que também mostraram que indivíduos portadores do alelo C para o mesmo polimorfismo possuíam menores concentrações de NO<sup>13,34,35</sup>. Por exemplo, Nakayama e cols.<sup>13</sup> observaram que os portadores do alelo C possuem uma diminuição de 50,0% da atividade promotora quando comparado aos indivíduos portadores do alelo T, o qual é consistente com o conceito de

que o alelo C pode reduzir as concentrações de NO.

Na avaliação pós-treinamento, nenhuma diferença foi encontrada para os valores de NOx no grupo TT. Uma possível explicação para esse resultado é que as concentrações de NOx dos participantes desse grupo, devido a ausência de diferença entre as avaliações pré e pós-treinamento, já se encontram em valores ideais para manter o controle da PA. Para o grupo TC+CC, os níveis de NOx aumentaram após o treinamento aeróbico, mas este aumento não foi estatisticamente significativo. Tal resultado sugere que, embora o treinamento físico realizado não tenha sido suficiente para aumentar as concentrações de NOx, houve um aumento da atividade da eNOS em indivíduos portadores do alelo C, pois a diferença existente entre os grupos na avaliação pré-treinamento para a NOx, não se manteve significativa na avaliação pós-treinamento. Esse resultado está em concordância com vários outros estudos que mostraram resultados similares<sup>3,20,36</sup>.

Existem crescentes evidências para indicar que o exercício

**Tabela 2 - Correlação de Pearson entre as variáveis NOx, PA, e FS de idosas pré-hipertensa, subdivididas de acordo com o polimorfismo T-786C do gene da eNOS, nos momentos pré e pós-treinamento físico**

	r	p
<b>TT</b>		
Pré-treinamento		
NOx versus FS-0	0,6	0,05
PAD versus FS-0	-0,7	0,04
PAD versus RV-0	0,8	0,01
PAD versus RV-1	0,6	0,04
Pós-treinamento		
NOx versus FS-0	0,6	0,05
Mudanças com o treinamento físico		
NOx versus PAD	-0,6	0,05
<b>TC+CC</b>		
Pré-treinamento		
Nenhuma correlação	-	-
Pós-treinamento		
PAD versus FS-1	-0,8	0,01
PAD versus FS-2	-0,6	0,05
PAD versus FS-3	-0,6	0,05
Mudanças com o treinamento físico		
NOx versus FS-1	0,8	0,01
NOx versus PAD	-0,7	0,03

NOx - metabólitos do óxido nítrico; FS - fluxo sanguíneo (repouso e depois de um, dois e três minutos de hiperemia reativa); PAD - pressão arterial diastólica.

crônico aumenta o sistema de defesa antioxidante em vasos sanguíneos de humanos através do aumento da atividade da ecSOD<sup>8,14,37</sup>. O exercício aeróbico pode aumentar a atividade da ecSOD e potencialmente aumentar a biodisponibilidade do NO<sup>11,20</sup>. Entretanto, a atividade biológica do NO é dependente dos ânions superóxidos, os quais comprometem a funcionalidade do NO<sup>38</sup>. No presente estudo, a atividade da ecSOD foi menor para o grupo TC+CC comparado ao grupo TT na avaliação pré-treinamento, mas esta diferença não atingiu significância estatística.

Após o programa de exercício, ambos os grupos aumentaram proporcionalmente a atividade da ecSOD, mas este aumento permaneceu sem diferenças estatísticas entre as avaliações e grupos. Dessa forma, sugere-se que a capacidade antioxidante relacionada à biodisponibilidade de NO não está prejudicada nos participantes deste estudo. Esse resultado está em concordância com o estudo de Di Massimo e cols.<sup>38</sup>, que evidenciaram os valores de NOx independentemente dos valores de ecSOD.

A liberação do NO tem sido considerada como um forte mediador para a hiperemia reativa em artérias periféricas<sup>4</sup>. Desse modo, baixos níveis de NOx observados no grupo

TC+CC, associado às respostas do FS entre os grupos na avaliação pré-treinamento, estão em concordância com outros estudos que mostraram resultados similares<sup>24</sup>. Embora nenhuma diferença tenha sido encontrada na variável FS, o grupo TT apresentou menores respostas na avaliação pré-treinamento. Tal resultado indica que o grupo TT retornou aos valores de repouso mais rapidamente do que o grupo TC+CC.

Apesar dos indivíduos portadores do alelo C apresentarem níveis menores de NOx e menor atividade da ecSOD na avaliação pré-treinamento, o fluxo sanguíneo ainda permaneceu relativamente elevado. Esse resultado sugere que existem várias outras substâncias que podem estar contribuindo para esta resposta cardiovascular, como por exemplo, potássio, oxigênio, dióxido de carbono e adenosina<sup>39,40</sup>. A partir do momento em que os portadores do alelo C possuem alguma disfunção vascular, é possível que outros vasodilatadores estejam atuando para controlar as respostas ao fluxo sanguíneo, compensando assim a reduzida produção de NO<sup>17,40</sup>.

No grupo TC+CC, nenhuma correlação foi encontrada na avaliação pré-treinamento entre as variáveis NOx, FS e PA. Esse resultado pode ser explicado pelo efeito deletério do alelo C na regulação entre produção e biodisponibilidade do NO. Entretanto, com as correlações encontradas na avaliação pós-treinamento entre as variáveis de pressão arterial, fluxo sanguíneo e NOx, pode-se afirmar que 6 meses de um programa regular de exercícios aeróbicos podem contribuir para aumentar a relação existente entre essas variáveis em indivíduos portadores do alelo C.

Após o programa de exercício, aparentemente, o grupo TT possuía uma resposta normal para a função vascular, resultando em um reduzido efeito do programa de exercício no repouso e após a hiperemia reativa no FS. Para o grupo TC+CC, embora os valores de fluxo sanguíneo tenham sido mais altos, os indivíduos tiveram respostas similares comparadas às respostas do grupo TT. Sendo assim, parece que a capacidade de retorno à homeostase mais rapidamente, no grupo TC+CC na avaliação pós-exercício, pode indicar uma resposta favorável do treinamento físico, resultando numa melhora da função vascular periférica. Tal resultado está em concordância com estudos prévios que mostraram um efeito benéfico do exercício físico no fluxo sanguíneo em diferentes genótipos<sup>4,24,36</sup>.

Apesar deste estudo possuir algumas limitações, como por exemplo, exclusão de determinadas características populacionais (obesos, diabéticos, cardiopatas etc.), da análise de apenas um polimorfismo e de somente algumas substâncias relacionadas tanto à produção quanto à biodisponibilidade do NO, é possível sugerir um efeito benéfico do exercício físico frente as variáveis analisadas.

Em resumo, o presente estudo encontrou um efeito positivo do programa de exercício físico com relação ao polimorfismo T-786C do gene da eNOS. Isso sugere que um aumento do nível de atividade física regular pode melhorar a resposta ao controle cardiovascular, especialmente do NO em portadores do alelo C, contribuindo para a relação entre pressão arterial e fluxo sanguíneo.

## Agradecimentos

Department of Kinesiology - University of Maryland/Grant KO1AG019640 (M. D. Brown).

### Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Referências

1. Channon KM, Guzik TJ. Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol*. 2002; 53 (4 Pt 1): 515-24.
2. Rush JW, Denniss SG, Graham DA. Vascular nitric oxide and oxidative stress: determinants of endothelial adaptations to cardiovascular disease and to physical activity. *Can J Appl Physiol*. 2005; 30 (4): 442-74.
3. Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res*. 1994; 74 (2): 349-53.
4. Higashi Y, Sasaki S, Sasaki N, Nakagawa K, Ueda T, Yoshimizu A, et al. Daily aerobic exercise improves reactive hyperemia in patients with essential hypertension. *Hypertension*. 1999; 33 (1 Pt 2): 591-7.
5. Moncada S. Nitric oxide. *J Hypertens Suppl*. 1994; 12 (10): S35-9.
6. Zago AS, Zanesco A. Nitric oxide, cardiovascular disease and physical exercise. *Arq Bras Cardiol*. 2006; 87 (6): e264-70.
7. Erbs S, Baither Y, Linke A, Adams V, Shu Y, Lenk K, et al. Promoter but not exon 7 polymorphism of endothelial nitric oxide synthase affects training-induced correction of endothelial dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23 (10): 1814-9.
8. Guzik TJ, Olszanecki R, Sadowski J, Kapelak B, Rudzinski P, Jopek A, et al. Superoxide dismutase activity and expression in human venous and arterial bypass graft vessels. *J Physiol Pharmacol*. 2005; 56 (2): 313-23.
9. Heltianu C, Costache G, Gafencu A, Diaconu M, Bodeanu M, Cristea C, et al. Relationship of eNOS gene variants to diseases that have in common an endothelial cell dysfunction. *J Cell Mol Med*. 2005; 9 (1): 135-42.
10. Lauer T, Kleinbongard P, Kelm M. Indexes of NO bioavailability in human blood. *News Physiol Sci*. 2002; 17: 251-5.
11. Rutherford PA. Genetic influences in human hypertension. *J Hypertens*. 2003; 21 (1): 19-22.
12. Touyz RM, Schiffrin EL. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. *Histochem Cell Biol*. 2004; 122 (4): 339-52.
13. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H, et al. T-786-->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation*. 1999; 99 (22): 2864-70.
14. Campo S, Sardo AM, Campo GM, D'Ascola A, Avenoso A, Castaldo M, et al. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) gene mutations screening in a sample of Mediterranean population. *Mutat Res*. 2005; 578 (1-2): 143-8.
15. Landmesser U, Harrison DG, Drexler H. Oxidant stress-a major cause of reduced endothelial nitric oxide availability in cardiovascular disease. *Eur J Clin Pharmacol*. 2006; 62 (Suppl 1): 13-9.
16. Vaneckova I, Kramer HJ, Novotna J, Kazdova L, Opocensky M, Bader M, et al. Roles of nitric oxide and oxidative stress in the regulation of blood pressure and renal function in prehypertensive Ren-2 transgenic rats. *Kidney Blood Press Res*. 2005; 28 (2): 117-26.
17. Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol*. 1999; 31 (1): 61-74.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela Grant KO1AG019640 (M.D. Brown).

## Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

18. Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension*. 2004; 44 (3): 248-52.
19. Park JY, Ferrell RE, Park JJ, Hagberg JM, Phares DA, Jones JM, et al. NADPH oxidase p22phox gene variants are associated with systemic oxidative stress biomarker responses to exercise training. *J Appl Physiol*. 2005; 99 (5): 1905-11.
20. Higashi Y, Yoshizumi M. Exercise and endothelial function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacol Ther*. 2004; 102 (1): 87-96.
21. Weiss EP, Park JJ, McKenzie JA, Park JY, Kulaputana O, Brown MD, et al. Plasma nitrate/nitrite response to an oral glucose load and the effect of endurance training. *Metabolism*. 2004; 53 (5): 673-9.
22. Fearheller DL, Brown MD, Park JY, Brinkley TE, Basu S, Hagberg JM, et al. Exercise training, NADPH oxidase p22phox gene polymorphisms, and hypertension. *Med Sci Sports Exerc*. 2009; 41 (7): 1421-8.
23. Jones JM, Dowling TC, Park JJ, Phares DA, Park JY, Obisesan TO, et al. Differential aerobic exercise-induced changes in plasma aldosterone between African Americans and Caucasians. *Exp Physiol*. 2007; 92 (5): 871-9.
24. Data SA, Roltsch MH, Hand B, Ferrell RE, Park JJ, Brown MD. eNOST-786C genotype, physical activity, and peak forearm blood flow in females. *Med Sci Sports Exerc*. 2003; 35 (12): 1991-7.
25. Hand BD, Roth SM, Roltsch MH, Park JJ, Kostek MC, Ferrell RE, et al. AMPD1 gene polymorphism and the vasodilatory response to ischemia. *Life Sci*. 2006; 79 (15): 1413-8.
26. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003; 42 (6): 1206-52.
27. Brown MD, Hogikyan RV, Dengel DR, Supiano MA. Sodium-sensitive hypertension is not associated with higher sympathetic nervous system activity in older hypertensive humans. *Am J Hypertens*. 2000; 13 (8): 873-83.
28. Tanus-Santos JE, Desai M, Flockhart DA. Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants. *Pharmacogenetics*. 2001; 11 (8): 719-25.
29. Rossi GP, Taddei S, Virdis A, Cavallini M, Ghiadoni L, Favilla S, et al. The T-786C and Glu298Asp polymorphisms of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow responses of Caucasian hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41(6): 938-45.
30. Nagassaki S, Metzger IF, Souza-Costa DC, Marroni AS, Uzuelli JA e Tanus-Santos JE. eNOS genotype is without effect on circulating nitrite/nitrate level in healthy male population. *Thromb Res*. 2005; 115 (5): 375-9.
31. Sandrim VC. Influence of T-786C polymorphism on the promoter activity of eNOS. *Clin Chim Acta*. 2006; 367 (1-2): 208.
32. Hagberg JM, Park JJ, Brown MD. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. *Sports Med*. 2000; 30 (3): 193-206.
33. Wang XL, Wang J. Endothelial nitric oxide synthase gene sequence variations and vascular disease. *Mol Genet Metab*. 2000; 70 (4): 241-51.

34. Dengel DR, Brown MD, Ferrell RE, Reynolds TH, Supiano MA. A preliminary study on T-786C endothelial nitric oxide synthase gene and renal hemodynamic and blood pressure responses to dietary sodium. *Physiol Res.* 2007; 56: 393-401.
35. Metzger IF, Souza-Costa DC, Marroni AS, Nagasaki S, Desta Z, Flockhart DA, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes associated with circulating concentrations of nitric oxide products in healthy men. *Pharmacogenet Genomics.* 2005; 15 (8): 565-70.
36. Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB J.* 2000; 14 (12): 1685-96.
37. Ohta M, Nanri H, Matsushima Y, Sato Y, Ikeda M. Blood pressure-lowering effects of lifestyle modification: possible involvement of nitric oxide bioavailability. *Hypertens Res.* 2005; 28 (10): 779-86.
38. Di Massimo C, Scarpelli P, Di Lorenzo N, Caimi G, Di Orio F, Ciancarelli MG. Impaired plasma nitric oxide availability and extracellular superoxide dismutase activity in healthy humans with advancing age. *Life Sci.* 2006; 78 (11): 1163-7.
39. Koramaz I, Ozkan M, Altun G, Guven KY, Kadioglu Duman M, Kalyoncu NI, et al. Effects of papaverine and carbon dioxide alone or in combination on the blood flow of internal thoracic artery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006; 132 (5): 1126-30.
40. Juel C, Olsen S, Rentsch RL, Gonzalez-Alonso J, Rosenmeier JB. K<sup>+</sup> as a vasodilator in resting human muscle: implications for exercise hyperaemia. *Acta Physiol (Oxf).* 2007; 190 (4): 311-8.