

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE**

---

**PAPEL DO POLIMORFISMO NO GENE DA SINTASE DO ÓXIDO NÍTRICO  
ENDOTELIAL (eNOS) NA POSIÇÃO G894T NA REPOSTA PRESSÓRICA  
EM MULHERES NO CLIMATÉRIO: EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO**

**TIAGO MARQUES DE REZENDE**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Motricidade.

**Julho - 2009**

# **TIAGO MARQUES DE REZENDE**

## **PAPEL DO POLIMORFISMO NO GENE DA SINTASE DO ÓXIDO NÍTRICO ENDOTELIAL (eNOS) NA POSIÇÃO G894T NA REPOSTA PRESSÓRICA EM MULHERES NO CLIMATÉRIO: EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Motricidade.

**Orientadora: Profa. Dra. Angelina ZanESCO**

Rio Claro - 2009

796.19 Rezende, Tiago Marques de  
R467p Papel do polimorfismo no gene da síntese do óxido nítrico  
endotelial (eNOS) na posição G894T na resposta pressórica  
em mulheres no climatério: efeito do treinamento físico /  
Tiago Marques de Rezende. - Rio Claro : [s.n.], 2009  
84 f. : il., figs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Biociências de Rio Claro  
Orientador: Angelina Zanesco

1. Educação física. 2. Educação física adaptada. 3.  
Exercício físico. 4. Hipertensão arterial. I. Título.

**TIAGO MARQUES DE REZENDE**

**PAPEL DO POLIMORFISMO NO GENE DA SINTASE  
DO ÓXIDO NÍTRICO ENDOTELIAL (eNOS) NA  
POSIÇÃO G894T NA RESPOSTA PRESSÓRICA EM  
MULHERES NO CLIMATÉRIO:  
EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO**

Dissertação apresentada ao  
Instituto de Biociências do  
Campus de Rio Claro,  
Universidade Estadual Paulista,  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências da Motricidade.

Comissão Examinadora

---

---

---

Rio Claro, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo apoio direto e indireto que me foi dado em todos os momentos, permitindo que eu pudesse melhorar e evoluir como profissional e como ser humano.

## AGRADECIMENTOS

A primeira pessoa a agradecer é a Profa. Dra. Angelina Zanesco, pois sem sua orientação, seus ensinamentos e suas cobranças, não teria tido essa chance de aprender e desenvolver dentro pós graduação, de como é que realmente se faz pesquisa (tenho muito que aprender ainda). Obrigado por tudo.

A segunda pessoa, mas não menos importante é a Camila de Moraes. Tudo o que aprendi de análise de laboratório lá na Unicamp (na Cascata), como separar as suas amostras e os reativos, trabalhando em cima do experimento, sem atrapalhar os outros, trabalhando de forma silenciosa, foi com você. Também sempre foi uma conselheira sobre alguns procedimentos dos meus trabalhos, dando idéias e sugestões. E desde que nos conhecemos, você se tornou uma grande amiga, para os momentos alegres e para os momentos tristes, sempre me incentivando, me ajudando. Camis muito obrigado por tudo!

Duas pessoas foram muito importantes no ano antes de iniciar o mestrado e que participaram ate metade da caminhada dentro do mestrado, que foram o Tarcísio e Danilo Scaggion. O Tarcísio, que me permitiu ter uma oportunidade de conseguir o meu primeiro emprego na área depois de formado. Sempre foi conselheiro dentro da academia, me fez crescer com profissional. Foi um grande amigo e parceiro, para os mais diversos assuntos e para assistir os jogos, fazendo algumas loucuras ao ir ao estádio para ver os jogos. Tarso sempre serei grato por tudo que fizeste por mim. E que o seu tricolor seja campeão mais uma vez. A segunda pessoa foi quem permitiu que pudesse ficar em Rio Claro empregado antes de começar o mestrado, e com o tempo passou a ser um grande amigo, tornando o ambiente de trabalho um local de gostoso para se trabalhar e tendo um amigo para sair e conversar. Foram várias as conversas, os lanches, os assuntos mais loucos e engraçados. Danilo, muito obrigado!

Aos meus colegas e amigos de laboratório, Carlos, Nathália, Pamella, Autran, Pedro, Valéria e Giselda. Sem essas pessoas fantásticas, dificilmente seria possível desenvolver os trabalhos que foram feitos. Meus queridos, obrigado pelo apoio e pela ajuda que sempre deram. Desejo todo o sucesso do mundo a vocês.

Aos amigos de faculdade, que ajudaram direta ou indiretamente, quer fosse com um artigo, com uma técnica ou algum reagente, com um momento de relaxamento para poder retomar o trabalho. São muitas as pessoas, como por exemplo Rodrigo Dália, Carla Ribeiro (carinhosamente chamada por mim de Carlão), a Clarice, o Marcelão, e muitos outros.

Ao pessoal da atlética Ayrton Senna da Silva. Galera conviver com vocês foi algo incrível, de uma intensidade incrível, nos momentos engraçados da mesinha, nos momentos das festas, e principalmente durante os jogos do Interunesp. Foram momentos incríveis, mágicos e que jamais esquecerei. Katsumi, obrigado por permitir que isso acontecesse. Jaminho, muitas risadas e trabalho nesses anos juntos. Terra Roxa, amigo e companheiro para resolver os pepinos que tínhamos. A galera nova, que foi excelente eu sou puro elogio a vocês, sem esquecer a turma toda (Lulu, Pedrão, Drika, Porps, Lombardi, Topo, Ema, Soneca, Cesão, Honda, Lulis) Valeu galera.

Agradeço a todos do Hemocentro/Unicamp, que permitiram que esse trabalho fosse realizado. A Carla Penteado foi uma grande professora de PCR e de Digestão, assim como a Dulcinéia, a Maria do Perpétuo (Help), o Marcos André e a Dani. Um agradecimento especial a Ana Lorena, que me aturou e ajudou na graduação, me ajudou novamente, me abrigando em sua casa, tendo que me aturar algumas vezes, e a Ju juntamente com a Rep. Malagueta, que também me receberam e me trataram com uma hospitalidade fora do comum. Meninas obrigado por tudo, adorei conhecer vocês. Voltarei a Campinas para sair com vocês!

Aos meus amigos do XXX AMC, vocês sempre foram e serão os meus melhores amigos. Algumas viagens, as reuniões aos fds, os churrascos, as risadas, as bobadeiras, as formaturas... as formaturas, são tantas histórias. Obrigado por fazerem parte da minha vida. E que nossas reuniões nunca acabem, que a distância, a falta de dinheiro ou um emprego com muitas horas de trabalho , não atrapalhe a nossa amizade, que ela continue para sempre.

Aos meus amigos da Rep. Leitinho, Sandro, Magaldi e Leó, agradeço por terem transformado a minha vida no começo da minha vinda para Rio Claro. Sem vocês não talvez teria ficado aqui em RC. Vocês foram a minha família aqui em RC. E outro membro especial que morou comigo, é o Hugão, que dividimos a mesma república por muito tempo, vivendo muitas risadas e muitas loucuras, fostes um grande irmão.

E por último, a minha família em Ribeirão Preto, que me apoiou e me apóia, sempre sendo compreensivos, ainda mais com a minha ausência por períodos prolongados, pois antes era o trabalho que tomava o meu tempo que depois passou para a necessidade de fazer os meus trabalhos dentro do mestrado. Amo vocês!

**“SABER É PRECISO**

Só sei que: Estamos apenas começando, devemos continuar e nunca terminaremos” (Fernando Sabino)



## RESUMO

As mulheres possuem maior longevidade do que os homens, e após a menopausa a incidência de doenças cardiovasculares em mulheres é equivalente a dos homens, e assim os gastos com saúde na população feminina aumentam significativamente após a menopausa. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de variações polimórficas no gene da eNOS na posição G894T em mulheres no climatério, e se o exercício físico aeróbio por 6 meses teria efeitos benéficos sobre a pressão arterial destas voluntárias. Nossos resultados mostram que o exercício físico não foi capaz de alterar o IMC das voluntárias. Por outro lado, o treinamento físico por 24 semanas foi efetivo em reduzir os valores de pressão arterial das voluntárias normotensas e hipertensas com genótipo GG, mas o genótipo GT+TT provoca alterações significativas nas respostas cardiovasculares que limita a magnitude de redução da pressão arterial na população estudada. Portanto, nossos dados claramente mostram que a presença do polimorfismo para o gene da eNOS na posição G894T afeta as respostas hipotensora, principalmente em hipertensas, ao exercício e pode estar associado a gênese da hipertensão arterial.

## ABSTRACT

Epidemiological studies show that the incidence of cardiovascular disease in women increases dramatically in the postmenopausal years. Lately, women have more longevity as compared to men and consequently the menopausal time is longer in comparison with the last decades. A number of factors can contribute to increased incidence of cardiovascular disease among postmenopausal women, including alterations in lipid profile, weight gain, and decreases in physical activity during the menopause. Therefore, the aim of this study is to verify whether long-term of exercise on the arterial blood pressure in postmenopausal women with eNOS gene G894T polymorphism could affect the response to aerobic exercise training. Our findings show that exercise training failed to modify Body mass index. On the other hand, women with eNOS gen with genotype GG were more responsive to aerobic training than those with GT+TT to lowering arterial blood pressure. In conclusion, our findings clearly show that the presence of polymorphism in the eNOS gen G894T is deleterious to blood pressure control in response to exercise training.

## LISTA FIGURAS

	Página
Figura 1. Síntese e mecanismo de ação do óxido nítrico no músculo liso vascular	12
Figura 2. Valores de índice de massa corporal e de peso corporal de voluntárias normotensas e hipertensas	32
Figura 3. Valores de pressão arterial sistólica e diastólica de voluntárias normotensas	34
Figura 4. Valores de pressão arterial sistólica e diastólica de voluntárias hipertensas	35
Figura 5. Concentração plasmática de nitrito/nitrato de voluntárias normotensas e hipertensas	36
Figura 6. Tempo de execução do teste de 1 milha de voluntárias normotensas e hipertensas	38
Figura 7. Pressão arterial sistólica para as voluntárias normotensas com o alelo GG e GT+TT	41
Figura 8. Pressão arterial diastólica para as voluntárias normotensas com o alelo GG e GT+TT	42
Figura 9. Pressão arterial sistólica para as voluntárias hipertensas com o alelo GG e GT+TT	43
Figura 10. Pressão arterial diastólica para as voluntárias hipertensas com o alelo GG e GT+TT	44
Figura 11 Concentração plasmática de nitrito/nitrato de voluntárias normotensas com o alelo GG e GT+TT	46
Figura 12. Concentração plasmática de nitrito/nitrato de voluntárias hipertensas com o alelo GG e GT+TT	47

## Lista de Tabelas

	Página
Tabela 1. Classificação da pressão arterial	05
Tabela 2. Valores normativos para o Teste de Caminhada de uma Milha	24
Tabela 3. Composição das reações para amplificação das regiões polimórficas	26
Tabela 4. As condições das reações para amplificação do polimorfismo da eNOS 298	26
Tabela 5. Os Primers e Enzima usados para o estudo do polimorfismo da eNOS 298	26
Tabela 6. Distribuição do polimorfismo G894T no gene da eNOS	39
Tabela 7. Valores de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, nitrito/nitrato e Tempo de Execução do Teste de 1 milha em minutos, para o grupo hipertensa não medicamentada e hipertensas medicamentadas	48
Tabela 8. Valores de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, nitrito/nitrato e Tempo de Execução do Teste de 1 milha em minutos, para o grupo hipertensa não medicamentada e hipertensas medicamentadas, de acordo com o genótipo	50

**LISTA DE ABREVIATURAS**

HAS – Hipertensão arterial sistêmica;  
OMS – Organização Mundial da Saúde;  
T1 – Primeiro segmento torácico;  
L2 – Segundo segmento lombar;  
S2 – Segundo segmento sacral;  
S4 – Segundo segmento sacral;  
Nn – Receptor colinérgico nicotínico neuronal;  
Nm – Receptor colinérgico nicotínico muscular e ganglionar;  
NTS – Núcleo do trato solitário;  
EDHF – Fator hiperpolarizante derivado do endotélio;  
ATP – Trifosfato de adenosina;  
ECA – Enzima conversora de angiotensina;  
PGI<sub>2</sub> – Prostaciclina;  
NO – Óxido nítrico  
NOS – Sintase do óxido nítrico  
NO<sub>x</sub><sup>-</sup> - Nitato e nitrito  
GMPc – Monofosfato cíclico de guanosina;  
O<sub>2</sub> – Oxigênio molecular;  
NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida;  
FAD - Flavina adenina dinucleotídeo;  
FMN - Flavina mononucleotídeo;  
BH<sub>4</sub> – Tetrahidrobiopterina;  
Ca<sup>2+</sup> - Íon de Cálcio;  
eNOS – Sintase do óxido nítrico endotelial  
nNOS ou bNOS – Sintase do óxido nítrico neuronal  
iNOS – Sintase do óxido nítrico induzível  
GTP – Guanosina trifosfato;  
HA – Hipertensão arterial;  
Kcal – Quilocaloria;  
mmHg – Milímetro de mercúrio;  
FC – Frequência Cardíaca;  
VO<sub>2</sub> reserva – Consumo de oxigênio de repouso;

FC máx – Frequência cardíaca máxima;  
BORG - Escala de percepção subjetiva de esforço;  
DNA – Ácido desoxirribonucléico;  
A – Adenina;  
T – Timina;  
C – Citosina;  
G – Guanina;  
RNA – Ácido ribonucléico;  
dNTPs - deoxinucleosídeos 5'-trifosfato;  
SNPs – polimorfismo de um único nucleotídeo;  
SSRs – Polimorfismo de repetições de seqüências simples;  
PCR – *Polymerase Chain Reaction* ou reação em cadeia da polimerase;  
MgCl<sub>2</sub> – Cloreto de magnésio;  
pH – Indicador de acidez de uma solução;  
GG – Alelo selvagem ou normal (Homozigoto);  
GT – Alelo heterozigoto, com uma alteração polimorífica;  
TT – Alelo homozigoto recessivo;  
PAS – Pressão arterial sistólica;  
PAD – Pressão arterial diastólica;  
SBH – Sociedade Brasileira de Hipertensão;  
NT – Voluntárias normotensas;  
HT – Voluntárias hipertensas;  
IMC – Índice de massa corporal;  
VO<sub>2</sub> máx – Consumo máximo de oxigênio;  
bpm – Batimentos por minuto;  
NH<sub>4</sub>Cl – Cloreto de amônio;  
pb – Pares de base;  
Mbol – Enzima de digestão;  
VO<sub>2</sub> min – Tempo de execução do teste de 1 milha;

## SÚMARIO

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	01
Climatério e Menopausa .....	01
Hipertensão Arterial .....	04
Mecanismos de controle de pressão arterial .....	06
Controle neural .....	06
Controle humoral .....	08
Controle humoral: Angiotensina II .....	09
Controle humoral sistema endotelial .....	09
Óxido nítrico .....	10
Hipertensão e exercício físico .....	13
Genética molecular e polimorfismo .....	15
Alterações nas bases do DNA .....	17
Tratamento Farmacológico da Hipertensão Arterial .....	18
Exercício Físico e Uso de Drogas Antihipertensivas .....	19
2. HIPÓTESE E OBJETIVOS .....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	22
Participantes .....	22
Avaliação antropométrica .....	23
Medida de pressão arterial .....	23
Avaliação cardiopulmonar .....	23
Nitrito e nitrato ( $\text{NO}_x^-$ ) .....	24
Extração do DNA genômico .....	25
Reação em cadeia da polimerase (PCR) .....	25
Polimorfismo G894T .....	28
Protocolo de treinamento .....	29
Análise estatística .....	30
4. RESULTADOS .....	31
5. SUMÁRIO DOS RESULTADOS .....	51
6. DISCUSSÃO .....	52
7. CONCLUSÕES .....	57
8. REFERÊNCIAS .....	58

## **1 - INTRODUÇÃO**

Considerando que as mulheres possuem maior longevidade do que os homens, e que após a menopausa a incidência de doenças cardiovasculares em mulheres é equivalente a dos homens, os gastos com saúde na população feminina aumentam significativamente após a menopausa (SIMKIN-SILVERMAN et al., 1995). E mesmo com novas tecnologias, que permitiram avanços no diagnóstico e no tratamento da hipertensão arterial, a incidência da hipertensão continua elevada nos últimos 25 anos. Dentro da população, 25 % apresentam hipertensão arterial, e destes cerca de 50 % pertencem à faixa etária acima de 40 anos. Dessa forma, medidas urgentes de controle nos níveis pressóricos na população precisam ser tomadas e políticas públicas baseadas em resultados de pesquisa devem ser priorizadas para a população brasileira.

### **Climatério e Menopausa**

A mulher entre os 35 e 65 anos de idade passa por um período de modificações hormonais, fisiológicas e psíquicas, chamado de climatério. O climatério é a transição gradual da fase reprodutiva, fértil, para a não reprodutiva, partindo de um período na qual a mulher apresenta um ciclo ovulatório potencialmente fértil para um período de total falência ovariana. A menopausa entende-se como a última menstruação, a qual é diagnosticada após o período de um ano de amenorréia (FERNANDES, 1994).

As mulheres não grávidas passam por uma seqüência cíclica de mudanças nos ovários e útero. Cada ciclo leva aproximadamente um mês e envolve a oogênese ou ovogênese (formação do óvulo: ciclo ovariano) e a preparação do útero para receber esse óvulo fertilizado (ciclo menstrual). O ciclo reprodutivo feminino (inclui ambos os ciclos ovariano e menstrual) inicia quando um grupo de folículos (óvulo e células foliculares que o envolvem, situados no córtex do ovário) começa a passar pelo seu amadurecimento final. Nesta fase, um folículo torna-se dominante e os outros degeneram. Ao mesmo tempo, o reparo endometrial ocorre no útero. Na fase menstrual o estrato funcional do endométrio (camada interna uterina) desprende e elimina sangue, líquido tecidual, muco e células epiteliais. A ovulação é a ruptura deste folículo dominante e a liberação do oócito na cavidade pélvica pela ação do LH, durante esta fase há secreção hormonal. O ciclo reprodutivo feminino é controlado pelo hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) O GnRH estimula as células gonodotróficas da



adenohipófise a liberarem os hormônios luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH). O FSH inicia o crescimento e o amadurecimento do folículo ovariano que desenvolve o oócito. Juntamente com LH induz a produção do estrogênio que provoca a ovulação, promove a formação do corpo lúteo e estimula a produção de estrogênios e progesterona entre outros (BERNE e LEVY, 1996; TORTORA e GRABOWSKI, 2002; GUYTON e HALL, 2006; ROSS e PAWLINA, 2008; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

Os estrogênios são secretados pelas células foliculares do estroma situado em torno do folículo. O estroma modifica-se formando as tecas foliculares que apresentam duas camadas: teca externa e interna. As células foliculares da camada interna produzem o hormônio androstenediona que é transformado em estrógeno pela ação da enzima aromatase sintetizada pela camada granulosa (camada externa no folículo) pela ação do FSH (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

Em mulheres menopausadas há reduções significativas nas concentrações séricas dos hormônios estrogênio e progesterona e elevações nas concentrações de FSH e LH levando ao fim dos ciclos ovulatórios, marcando o fim da menstruação (GALLO et al, 2001; FREITAS et al, 2002; FORJAZ et al, 2007). FERNANDES (1999), afirma que outras fontes alternativas tentam manter os níveis dos esteróides ovarianos, entre elas o estroma ovariana, glândulas supra-renais e gordura periférica), para a manutenção da homeostase orgânica, entretanto não é o suficiente para alcançar os níveis hormonais do período reprodutor. As alterações hormonais e fisiológicas pelas quais as mulheres passam podem provocar ou não alterações emocionais. Parte das mulheres que passam por tais modificações não expressam as reações adversas ou negativas, que muitas mulheres apresentam sobre a forma de sintomas e queixas psíquicas, destacando-se a irritabilidade, ansiedade, depressão e as disfunções sexuais (modificação do desejo, da excitação e do orgasmo). As modificações hormonais também trazem comprometimentos fisiológicos ao organismo da mulher. Há fortes evidências que relacionam as reduções nas concentrações séricas de estrogênio com a elevação na pressão arterial (WASSTHEIL-SMOLLER et al, 2000; GALLO et al, 2001; FREITAS et al, 2002; FORJAZ et al, 2007; COYLEWRIGHT et al, 2008). No entanto, deve-se salientar que diferentes fatores contribuem com a etiologia da hipertensão arterial como o sistema renina – angiotensina (SRAA), estresse oxidativo, entre outros. Por outro lado, o estradiol (um dos tipos de estrogênio) pode promover proteção cardiovascular através do controle do SRAA, incluindo redução da expressão dos receptores AT1 (receptores da angiotensina) em vasos e rins e reduzir a atividade da enzima conversora de angiotensina - ECA (HARRISO-BERNARD et al, 2003).

Um aumento no estresse oxidativo pode resultar em elevação das espécies reativas de oxigênio (reactive oxygen species: ROS) ou diminuição na habilidade de neutralizá-lo. Sabe-se que em modelos experimentais de hipertensão arterial ocorre elevação na produção de ROS. No entanto, em seres humanos essa associação ainda não é clara. Observa-se que a gonadectomia diminui a excreção urinária de  $H_2O_2$  em homens e eleva em mulheres, sugerindo que a testosterona eleva enquanto o estrogênio reduz o estresse oxidativo total (SULLIVAN et al, 2007).

O envelhecimento traz alteração da sensibilidade ao sal em ambos os sexos, relacionando-se a uma menor vasodilatação renal, possivelmente devido à redução do óxido nítrico (NO), aumento da resposta vasoconstritora da angiotensina II ou redução da conversão da L-arginina em NO pelo endotélio vascular renal. A sensibilidade ao sal é maior em mulheres menopausadas quando comparadas às mulheres pré-menopausadas, e a ovariectomia está associada com o desenvolvimento da sensibilidade ao sal. Em mulheres menopausadas com sensibilidade ao sal apresentaram redução da pressão arterial, quando submetidas ao tratamento de reposição hormonal (HIGACHI et al, 1996; SCHULMAN e RAIJ, 2006).

WASSERTHEIL-SMOLLER et al (2000) observa que o estrogênio apresenta função importante no controle cardiovascular através da modulação da função endotelial, ao elevar a produção de óxido nítrico (NO) via ativação da enzima óxido nítrico sintetase endotelial: eNOS (FORJAZ et al, 2007) e de prostaciclina (FREITAS et al, 2002) que são importantes substâncias vasodilatadoras via endotélio. Como também modula a síntese de endotelina que é um potente vasoconstritor (FREITAS et al, 2002). Assim reduções nas concentrações de estrogênio levam a uma disfunção endotelial que acarreta elevações nas pressões arteriais através da elevação da resistência vascular periférica.

Os estrogênios promovem o desenvolvimento e manutenção das estruturas genitais femininas, aumentam o anabolismo protéico, reduzem os níveis de colesterol sérico e apresentam função cardioprotetora. Os receptores dos estrogênios ( $ER\alpha$  e  $ER\beta$ ) também estão expressos no endotélio e na musculatura lisa vascular. Em relação ao tônus muscular, o hormônio induz formação do NO e redução dos seus inibidores; aumento da síntese de prostaglandinas e reduz a síntese de angiotensina II, endotelina I e catecolaminas acarretando vasodilatação e mantendo a integridade endotelial. Previne também o remodelamento vascular ao reduzir a expressão das moléculas de adesão em lesões vasculares; reduz a formação de fatores de crescimento ao diminuir o recrutamento de macrófagos e linfócitos; inibe a migração do macrófago para o endotélio e a formação de células em espuma via LDL; previne processo inflamatório no endotélio causado pelas células de espuma, reduz a adesão

plaquetária, fatores de crescimento e a aterogênese. Reduz os fatores que estimulam a hiperplasia e hipertrofia das células musculares lisas vasculares (DUBEY et al, 2002).

Dessa forma, as alterações hormonais, fisiológicas e psicológicas podem ter complicações para o quadro de saúde da mulher. Uma das principais complicações é o desenvolvimento da hipertensão arterial.

## **Hipertensão arterial**

O aumento da idade cronológica é um fator de risco, pois o processo biológico normal do envelhecimento causa alterações no organismo como: redução do tônus vascular, queda do consumo de oxigênio, aumento da frequência cardíaca, diminuição da flexibilidade articular, perda de massa óssea e massa muscular e aumento da massa gorda, que podem desencadear uma série de doenças relacionadas a essas modificações (McARDLE, 2002; SILVA, 2004).

Sabe-se que a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é uma doença crônico-degenerativa que apresenta maior prevalência no mundo moderno e é caracterizada pelo aumento da pressão arterial, tendo como causas a hereditariedade, a obesidade, o sedentarismo, o etilismo, o estresse entre outras. Dórea e Lotufo (2004) mostraram em seu estudo que a incidência da hipertensão arterial aumenta com o envelhecimento. Além disso, considerando o aumento acentuado da população de idosos no Brasil, e dos problemas associados ao processo natural de envelhecimento, principalmente no que se refere à hipertensão arterial, a compreensão dos ajustes cardiovasculares pela atividade física em indivíduos de meia idade e idosos é de grande importância para a área da saúde pública.

Apesar dos avanços no diagnóstico e no tratamento da hipertensão arterial, sua incidência continua elevada, cerca de 50% das pessoas acima dos 40 anos apresentam hipertensão arterial (V DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2006).

Para a Organização Mundial da Saúde (OMS) os valores normais da pressão arterial são: 120/80 mmHg, enquanto que os valores limítrofes são 130/85 mmHg. Valores pressóricos superiores a 140/90 mmHg, é considerado a presença de hipertensão arterial. No quadro 1, a seguir, esta disposta a classificação da pressão arterial.

**Tabela 1.** Classificação da pressão arterial de acordo com a medida no consultório (>18 anos)

<b>Classificação</b>	<b>Pressão Sistólica (mmHg)</b>	<b>Pressão Diastólica (mmHg)</b>
Ótima	<120	<80
Normal	<130	<85
Limítrofe	130-139	85-89
Hipertensão Estágio 1	140-159	90-99
Hipertensão Estágio 2	160-179	100-109
Hipertensão Estágio 3	>180	>110
Hipertensão Sistólica Isolada	>140	<90

(V DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2006)

Vale lembrar que qualquer indivíduo pode apresentar pressão arterial acima de 140/90 mmHg sem que seja considerado hipertenso. Apenas a manutenção de níveis permanentemente elevados, em múltiplas medições, em diferentes horários, posições e condições (repouso, sentado e deitado) caracteriza o diagnóstico de hipertensão arterial (V DIRETRIZES BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2006).

O controle da pressão arterial deve ser feito através de diversas abordagens, uso de medicamentos, mudanças no estilo de vida como melhorar a alimentação, moderação no consumo de bebidas alcoólicas, controle do tabagismo, diminuição do estresse, controle do peso e a prática regular de atividade física (SYKOWSKY et al., 1977; KANNEL, 1996; PADWALL, 2001).

Se não for tratada adequadamente, a hipertensão arterial pode causar lesões em vários órgãos como: coração, cérebro, vasos sanguíneos, rins e retina, podendo apresentar sintomas como: cefaléia – geralmente matutina e de localização occipital; tonturas, escotoma, tinido, palpitações e desconforto precordial. Nos casos em que a pressão arterial atinge valores acima de 160/95 mmHg, o risco de doença arterial coronária, insuficiência cardíaca congestiva, acidente vascular cerebral e doença vascular periférica aumentam em cerca de 150 a 300% (KENNEY & SEALS, 1993).

## **Mecanismos de controle da pressão arterial**

O coração atua como uma bomba propulsora de sangue para dentro de um circuito fechado de vasos sanguíneos distensíveis. Quando ocorre a sístole ventricular, o sangue exerce uma força na parede dos vasos, gerando a pressão arterial sistólica e quando ocorre o relaxamento ventricular temos a pressão diastólica. O valor da pressão arterial é diretamente proporcional à frequência cardíaca, ao volume sistólico (que juntos formam o débito cardíaco) e à resistência vascular periférica. Alterações nestes fatores e, portanto no valor da pressão arterial são rapidamente identificadas e o organismo busca manter este valor dentro da faixa de normalidade para a manutenção da irrigação e nutrição tecidual. Assim, com a elevação da pressão arterial uma seqüência de mecanismos são ativados no sentido da manutenção dos valores de pressão arterial (BERNE e LEVY, 1996; GUYTON e HALL, 2006; MOHRMAN e HELLER, 2006).

O controle da pressão arterial é complexo e envolve diferentes sistemas e substâncias vasoativas. O sistema nervoso autônomo (simpático e parassimpático) associado aos pressoreceptores, quimiorreceptores e mecanorreceptores desempenham importante papel na gênese e/ou manutenção da hipertensão arterial. Substâncias vasoativas presentes na circulação ou sintetizadas pelas células endoteliais participam na regulação da pressão arterial através do controle no tono vascular, modulando a resistência vascular periférica e o remodelamento celular (ZANESCO e ANTUNES, 2005).

### **Controle Neural**

O sistema nervoso simpático e parassimpático tem papel fundamental no controle da pressão arterial, sendo ambos muito estudados. Assim avaliar a influência da atividade física sobre os dois sistemas em sujeitos normotenso ou hipertenso são de grande relevância para a compreensão do sistema cardiovascular.

Os neurônios pré-ganglionares do sistema nervoso simpático estão localizados na porção toraco-lombar da coluna espinhal, indo desde o primeiro segmento torácico (T1) até o segundo lombar (L2). As catecolaminas são os mediadores endógenos do sistema nervoso simpático, os quais iniciam suas ações por interação com receptores de membrana, denominados adrenoceptores (AHLQUIST, 1948). Esses mediadores são representados essencialmente pela noradrenalina (liberada das terminações nervosas pós-ganglionares

simpáticas) e adrenalina (liberada da medula adrenal). A ocupação dos adrenoceptores pelas catecolaminas é rápida, reversível, estereoseletiva e leva à formação de segundos mensageiros intracelulares que desencadeiam as respostas fisiológicas.

A estimulação dos adrenoceptores  $\beta$  pelas catecolaminas circulantes ou agonistas adrenérgicos induz aumento da frequência cardíaca (cronotropismo positivo) e da força de contração (inotropismo positivo), determinando elevação da pressão arterial. Os antagonistas de adrenoceptores  $\beta$  foram as primeiras drogas a serem usadas no controle da hipertensão arterial e são usadas até hoje com grande eficácia. Atualmente, discute-se muito sobre os reais efeitos dos antagonistas  $\beta$  adrenérgicos, uma vez que seu mecanismo de ação parece ser mais complexo do que apenas ligar-se aos adrenoceptores  $\beta$  e bloquear as ações das catecolaminas nesses sítios (PRIVIERO et al., 2004). Diversas drogas existem como antagonistas  $\beta$  adrenérgicos, entre elas temos o propranolol (antagonista  $\beta$  adrenérgico não seletivo, o atenolol (antagonista  $\beta_1$  seletivo), e mais recentemente o carvedilol (ação mista em adrenoceptores  $\alpha$  e  $\beta$ ).

Os neurônios pré-ganglionares do sistema parassimpático estão situados ou no tronco cerebral (bulbo, ponte, e mesencéfalo) ou no segmento sacral da medula espinhal (de S2 a S4). Não há conexão anatômica e funcional entre as porções craniana e sacral. O nervo vago é o neurônio que inerva a maior extensão do organismo, incluindo todas as vísceras torácicas e abdominais (exceto porção do colon, bexiga e órgãos sexuais). O sistema nervoso parassimpático possui como neurotransmissor a acetilcolina, que atua nos receptores colinérgicos. Os receptores colinérgicos são classificados em dois tipos principais: nicotínicos, que respondem à nicotina e muscarínicos, que exibem resposta excitatória à muscarina. Os receptores colinérgicos nicotínicos compreendem dois subtipos: Nn (neuronal) e Nm (muscular e ganglionar), os quais estão presentes no sistema nervoso central, na junção neuromuscular e nos gânglios autonômicos. São constituídos por quatro ou cinco subunidades alojadas na membrana, formando um canal iônico central, que atua como sítio de ligação da acetilcolina, e está situado no domínio extracelular da molécula do receptor (EGLÉN et al., 1996).

Os barorreceptores são os mediadores primários do sistema nervoso autônomo, no controle da pressão arterial e da frequência cardíaca. São terminações nervosas que respondem à deformação ou estiramento das paredes dos vasos, onde estão localizados. Os seios carotídeos e a crossa da aorta são os locais de maior concentração dessas aferências e com maior expressão fisiológica. Os seios carotídeos são uma dilatação das artérias carótidas

internas e a parede desta região é mais fina, e possui maior quantidade de tecido elástico do que de tecido muscular liso comparada a outras porções da parede arterial. A inervação sensorial desta área é provida pelos ramos do nervo glossofaríngeo, enquanto que a inervação dos barorreceptores aórticos é feita pelo nervo aórtico. As aferências barorreceptoras terminam no núcleo do trato solitário (NTS), onde normalmente são efetuadas as respostas de inibição da descarga simpática e intensificação da resposta vagal. A estimulação dos barorreceptores aórticos e carotídeos, por aumento da pressão arterial, desencadeia reflexamente uma inibição da descarga simpática, enquanto que uma queda da pressão arterial produz o efeito contrário (GUYTON e HALL, 2006). A resecção dos barorreceptores aórticos e carotídeos interrompe a aferência neuronal desses receptores sensoriais para o sistema nervoso central. Esta liberação do sistema nervoso simpático de uma fonte primária de inibição, imediatamente produz hipertensão e taquicardia. A hipertensão pode persistir por alguns meses, ou até um ano. Em geral, a hipertensão por desnervação sino-aórtica apresenta labilidade, de modo que, registros tomados por longos períodos mostram que o animal apresenta oscilações dos valores da pressão arterial, dependentes da atividade física do animal, no momento da medida. Diferente da pressão arterial, a taquicardia causada pela desnervação sino-aórtica é transitória e dura em média duas semanas (KRIEGER, 1964). Pequenas alterações da pressão arterial são percebidas pelos barorreceptores, que quando atingem seu limiar de excitabilidade, começam a promover as respostas necessárias ao ajuste da pressão arterial aos seus valores normais. Um dos efeitos do exercício crônico no controle da pressão arterial é aumentar o limiar de excitabilidade dos baroreceptores, promovendo maior inibição dos núcleos hipotalâmicos, e assim reduzir a atividade simpática ao coração, levando à bradicardia e hipotensão pós exercício (GRASSI et al., 1994).

### **Controle humoral**

Em relação à regulação humoral da pressão arterial, os agentes químicos são divididos em duas classes: os agentes vasoconstritores, como a endotelina, a angiotensina II, o tromboxano A<sub>2</sub> e os agentes vasodilatadores, como o óxido nítrico, a adenosina, o CGRP, o EDHF, a prostaciclina, a bradicinina, a acetilcolina e o ATP. Enfocaremos a seguir, essencialmente, o papel do sistema renina-angiotensina e do sistema endotelial no controle da pressão arterial.

### *Controle humoral: Angiotensina II*

Um potente mecanismo regulador para o controle da pressão arterial é o sistema renina-angiotensina. A renina é sintetizada e armazenada sob forma inativa, nas células juxtaglomerulares dos rins. Quando a pressão arterial cai, reações enzimáticas nos rins fazem com que moléculas de pró-renina se dividam e liberem a renina. Grande parte dessa renina passa ao sangue, que vai atuar sobre uma proteína plasmática, chamada angiotensinogênio, liberando a angiotensina I. A angiotensina I é convertida posteriormente em angiotensina II, esta conversão ocorre quase que totalmente nos pequenos vasos dos pulmões, catalisada pela enzima conversora de angiotensina (ECA) presente no endotélio dos vasos pulmonares. A angiotensina II é um potente vasoconstritor, sua ligação com os receptores AT<sub>1</sub>, presentes na musculatura lisa, ativa a proteína G com conseqüente ativação de fosfolipase C- $\beta$  e formação de 1,4,5-trifosfato e diacilglicerol que induz aumento da concentração intracelular de cálcio e ativação da proteína quinase C, promovendo vasoconstricção e conseqüentemente elevação da pressão arterial. Cabe salientar que a resposta à angiotensina II é bifásica na maior parte dos leitos vasculares, onde ocorre uma discreta vasodilatação desencadeada pela ativação dos receptores AT<sub>2</sub>, presentes na célula endoteliais, seguida de potente vasoconstricção, pela ativação dos receptores AT<sub>1</sub>, presentes nas células musculares lisas. A angiotensina II promove também, hipertrofia ventricular esquerda, vasoconstricção renal, contração de células mesangiais, aumento da atividade do trocador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> proximal e distal, inibição da secreção de renina, liberação de aldosterona e ativação do sistema simpático (BERNE E LEVY, 1996; GUYTON e HALL, 2006; MOHRMAN e HELLER, 2006).

### *Controle humoral: Sistema Endotelial*

A integridade endotelial é um fator importante para o controle da pressão arterial visto que produz substância que controlam a resistência vascular periférica. A camada íntima dos vasos sanguíneos de capacitância e de resistência é tomada pelo endotélio que é composto por células epiteliais capazes de produzir e secretar uma grande variedade de substâncias, dentre elas as prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), o óxido nítrico (NO) e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), (ZANESCO e ANTUNES, 2005).

A microscopia eletrônica na década de 60 permitiu uma melhor compreensão de estruturas e função de muitos tecidos ate então pouco conhecida. Com essa tecnologia, foi possível compreender as estruturas e funções do tecido vascular. Esse tecido possui três camadas, sendo divididas em: camada adventícia ( mais externa e composta pelo tecido



conjuntivo frouxo); camada Média ( composta pela músculo liso); e Íntima ( que está em contato direto com o sangue). A camada endotelial é composta por células epiteliais achatadas (variando o tamanho e a forma), unidas por junções intercelulares, por meio da junção de oclusão e aderente, permitindo a adesão celular e impedindo a difusão de substâncias do sangue entre elas.

Por produzir diferentes substâncias, o tecido endotelial pode ser considerado como um sistema: Autócrino; Parácrino; Endócrino. As células endoteliais caracterizam-se por serem responsáveis por uma variedade de funções biológicas, tais como a síntese e liberação de ampla diversidade de mediadores que regulam a vasomotricidade, a permeabilidade vascular, o metabolismo de substâncias endógenas e exógenas e a atividade plaquetária e leucocitária (PALMER, 1987).

### **Óxido nítrico (NO)**

Furchogott e Zawadzki demonstraram em 1980 que a ação de alguns vasodilatores, como no caso da acetilcolina, era dependente da presença do endotélio, sendo necessário que este tecido estivesse intacto, envolvendo a liberação do fator necessário para a redução do tônus vascular, nomeado de Fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF). A acetilcolina interage com os receptores muscarínicos das células endoteliais, liberando substâncias provocando relaxamento deste tecido por mecanismo relacionado à elevação dos níveis intracelulares de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc). Pesquisas posteriores demonstraram que EDRF era um radical livre, gasoso, inorgânico e incolor. Seu tempo de meia vida é curto, podendo variar de 03 a 60 segundos, o que dificultou a sua identificação inicial. A produção de NO/EDRF nas artérias e nas veias pode ser estimulado pela histamina, bradicinina, ATP, trombina, noradrenalina, agiotensina e seretonina.

A formação de NO abrange uma das funções mais importantes do metabolismo da L-arginina no corpo humano. O NO é produzido em duas etapas de oxidação, utilizando o oxigênio molecular ( $O_2$ ). Na primeira etapa, ocorre a formação de  $N^{\omega}$ -Hidroxi-L-arginina (reação que se assemelha às enzimas do citocromo P-450), seguido da conversão deste produto em NO e citrulina. Neste processo merece destaque a enzima óxido nítrico sintase (eNOS), sendo uma enzima que catalisa essa reação, associada a cofatores como o NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida) e os co-fatores o FAD (flavina adenina dinucleotídeo), FMN (flavina mononucleotídeo) e BH4 (tetrahidrobiopterina). Veja figura 1 para maiores detalhes.

A NOS endotelial (eNOS) é estimulada por uma cascata bioquímica que envolve a participação dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  e a calmodulina. O complexo  $\text{Ca}^{2+}$  - Calmodulina realiza a ativação do domínio redutase da enzima com a transferência de elétrons dos seus elétrons para o domínio oxigenase, ativando a eNOS, que será usada no metabolismo da L-arginina (CRAIG et al., 2002)

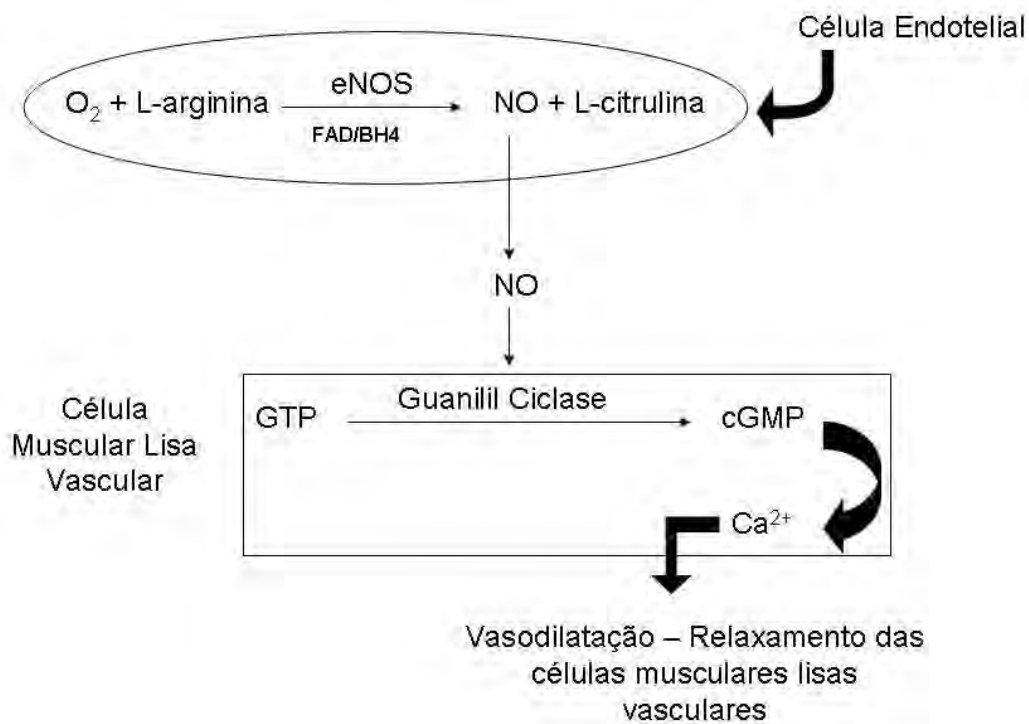
Três isoformas de NOS são encontradas, decodificadas cada uma por um cromossomo distinto, sendo uma na forma induzível e as outras duas na forma constitutivas (NOS endotelial e neuronal):

- NOS Neuronal (NOS do tipo I, nNOS ou bNOS): Identificada como isoforma constitutiva em tecido neuronal. É encontrada no cérebro, medula espinhal, gânglios simpáticos, glândulas adrenais e neurônios nitrérgicos;
- NOS endotelial (NOS do tipo III ou eNOS): Foi identificada como isoforma constitutiva em células endoteliais vasculares;
- NOS induzível (NOS do tipo II ou iNOS). Isoforma encontrada em macrófagos, hepatócitos, músculo liso e outros.

As isoformas do tipo I e III encontram-se inativas naturalmente, sendo ativadas pelo complexo  $\text{Ca}^{2+}$  - Calmodulina, que liga-se à enzima, determinando assim a liberação contínua de pequenas quantidades de NO por períodos curtos de tempo. A forma induzível não é encontrada no organismo tido como saudável. Ela é sintetizada quando há liberações de citocinas e endotoxinas bacterianas, passando a ser sintetizada NO em quantidades elevadas e por longos períodos de tempo, auxiliando no combate aos patógenos dentro do organismo. Isso demonstra que essa isoforma age independentemente do complexo  $\text{Ca}^{2+}$  - Calmodulina (FORSTERMANN et al., 1991).

A ativação da NOS e a formação de NO pelas células endoteliais inicia-se a partir de estímulos químicos ou físicos. O estímulo químico acontece da interação de agonistas endógenos/exógenos com receptores específicos presentes nas células endoteliais. O estímulo físico é dado pelo fluxo sanguíneo sobre as células endoteliais.

O exercício físico é um importante estímulo (estímulo físico) para a geração de NO no sistema arterial e com isso aumentar a resposta de relaxamento para o controle cardiovascular (MAEDA et al., 2001). Com o aumento do *shear stress*, ocorre estimulação de mecanosensores presentes nas células endoteliais, como as proteínas G, os canais iônicos, as junções intercelulares, as integrinas ou os lipídeos de membrana, que por sua vez ativam diretamente a eNOS.



**Figura 1.** Síntese e mecanismo de ação do óxido nítrico no músculo liso vascular.

Estudos recentes têm mostrado que a disfunção endotelial pode predispor ao desenvolvimento da hipertensão arterial. Com diminuição da produção de NO e disfunção vascular (LANDMESSER et al., 2004; LANDMESSER & DREXLER, 2007).

A disfunção endotelial pode ser causada por fatores ambientais e genéticos. Dentre os fatores genéticos, a presença do polimorfismo em genes específicos que contribuem para o desenvolvimento do quadro hipertensivo tem sido bastante estudado.

## Hipertensão e exercício físico

O exercício físico tem sido usado como uma ferramenta eficaz na prevenção e/ou tratamento da hipertensão arterial (KENNEY & SEALS, 1993). A atividade física regular como tratamento e principalmente como prevenção tem aspectos importantes como a associação entre a saúde física e prevenção da depressão, aptidão funcional melhorada e aumento da auto estima, como resultado de maiores níveis de atividade física, indicando que idosos fisicamente ativos possuem melhor relação social com as pessoas com os quais entram em contato (STELLA et al., 2002).

O que caracteriza o exercício físico é a contração muscular esquelética que gera algumas alterações cardiovasculares tais como: aumento do fluxo sanguíneo para a musculatura em atividade, redução da resistência vascular periférica proporcional ao aumento do débito cardíaco e conseqüentemente elevação da pressão arterial sistólica. Estas alterações cardiovasculares decorrentes do exercício dinâmico resultam em ajustes neurais e humorais. Os fatores humorais geram o relaxamento da musculatura vascular realizando vasodilatação com a redução da resistência vascular periférica e naturalmente a pressão arterial, sendo dependentes do endotélio. O exercício físico gera aumento no fluxo sanguíneo pulsátil e, esta pressão exercida pelo sangue na parede do vaso e chamada de tensão de cisalhamento ou shear stress. Quando exercida sob as células endoteliais, o shear stress é potente estímulo para a produção de NO pelas células endoteliais, aumentando a resposta de relaxamento e conseqüentemente reduzindo a pressão arterial (MONCADA et al., 1991; MAEDA et al., 2001).

Dados experimentais mostram que a redução da pressão arterial após exercício dinâmico crônico é maior em indivíduos hipertensos, principalmente quando os indivíduos estão classificados nos estágios 1 e 2 de HA, do que em normotensos, tanto em humanos quanto em animais de laboratório. O exercício aeróbio regular de intensidade moderada reduz os valores da pressão arterial sistólica em 6 – 10 mm Hg e a pressão diastólica em 4 – 8 mm Hg, nos indivíduos que se apresentam com hipertensão leve ou moderada (ARAKAWA, 1993; FAGARD, 2001).

Os exercícios aeróbios são mais eficientes como terapia alternativa, ou concomitante com terapia farmacológica, no tratamento da hipertensão arterial leve ou moderada.

Segundo orientações da sociedade européia de cardiologia é recomendado o exercício aeróbio de intensidade moderada, acumulando aproximadamente 1000 kcal por semana para resultar em reduções em todas as causas de mortalidade cardiovascular em cerca de 20%. Mas

se o volume for maior, maiores serão os benefícios, mas sem alterar a intensidade do exercício. Um item fundamental, na prescrição de determinado exercício físico, é a intensidade, a qual deve respeitar a condição física e possíveis limitações do indivíduo. Em linhas gerais, é possível dizer que o exercício de intensidade moderada para um adulto de meia idade é de baixa intensidade para os jovens, ou de alta intensidade para idosos (GIANNUZZI et al, 2003).

Dessa forma, fica melhor trabalhar expressando a intensidade em valores relativos e não absolutos. Pode-se trabalhar entre 45-60% da FC ou  $VO_2$  de reserva, ou 50 -70% da FC máxima, e por último, utilizando a escala de esforço percebido, BORG, ficando entre 11-13, sendo que a escala varia de 6-20 (ACSM, 2000; HOWLEY, 2001).

As sessões devem ser distribuídas durante a semana, tentando obter 1000 kcal durante a semana. Todavia, para os idosos, as sessões devem ser mais longas, visto que o gasto energético é menor (ACSM, 2000; NELSON et al., 2007).

A duração do exercício possui grande influência para a redução na pressão arterial pós-exercício. Estudos mostram que o exercício aeróbio quando realizado entre o intervalo de 40 a 45 minutos, promove melhores efeitos hipotensores do que quando a o exercício físico é realizado entre o intervalo de 20 a 25 minutos (OVERTON et. al., 1988; FORJAZ et al., 1998).

Analisando a hemodinâmica cardiovascular em hipertensos de meia idade, encontramos diminuição dos níveis pressóricos após exercícios, que foi relacionado à menor resistência vascular periférica (HARA & FLORAS, 1994). Enquanto que para hipertensos idosos, o principal responsável pelos novos níveis reduzidos de pressão arterial é a diminuição do débito cardíaco, podendo ser em consequência da redução do volume sistólico em função de um menor enchimento ventricular (BRANDÃO RONDON et. al., 2002). Outros mecanismos complexos e múltiplos foram propostos para explicar a redução da pressão arterial decorrente do treinamento físico; entre eles temos: redução do tônus simpático (LEBLANC et al., 1977), aumento da sensibilidade dos barorreceptores aórticos e carotídeos (KRIEGER et al., 1998), aumento da sensibilidade dos adrenoreceptores  $\beta_2$  vasculares e/ou diminuição da sensibilidade dos adrenoreceptores  $\alpha$  (SHEN et al., 1990), alterações do número de receptores adrenérgicos (TIPTON et al., 1982), diminuição dos níveis plasmáticos de renina e aldosterona (McCRIMMON et al., 1976; MELIN et al., 1980), liberação de opióides endógenos (HARTLEY et al., 1972), aumento da liberação de peptídeos nos átrios e nos ventrículos (FREUD et al., 1988) e maior produção de fatores relaxantes derivados do endotélio (SHEN et al., 1990; SESSA et al., 1994; FLAVAHAN e VANHOUTTE 1995).

Em relação às mulheres após a menopausa, alterações nos níveis de estrogênio, elevação dos níveis de concentrações séricas de colesterol total, LDL colesterol, e ganho de peso e níveis diminuídos de atividade física são fatores predisponentes para a prevalência de hipertensão arterial (SMIMKIN-SILVERMAN et al., 1995; SMIMKIN-SILVERMAN et al., 2005). Por outro lado, o treinamento físico em alguns pacientes hipertensos consegue redução, e às vezes até suspensão de medicamentos anti-hipertensivos, reduzindo dessa forma, os gastos dos órgãos de saúde pública e os efeitos colaterais decorrentes do tratamento medicamentoso (CADE et al., 1984).

Alguns estudos utilizam exercícios resistidos no tratamento da HA, relatam o benefício hipotensivo enquanto outros estudos não indicam alterações pressóricas (FLECK, 1988; BYRNE et al., 2000). MEDIANO et al. (2005) submeteu homens e mulheres idosas hipertensas ao treinamento resistido e observaram redução significativa na PA após 60 minutos de cada sessão de exercício. Contudo, mais estudos são necessários para melhor compreender a hipotensão pós exercício.

### **Genética molecular e polimorfismo**

É no material genético, DNA, que está a informação referente sobre como, quando e onde deve ser produzindo cada tipo de proteína dentro do organismo. É o DNA que controla a atividade celular. O DNA na sua estrutura tridimensional possui 2 longas fitas helicoidais que se enrolam em torno de um eixo comum, formando uma dupla hélice. As fitas de DNA são compostas por monômeros denominados de nucleotídeos. Existem quatro diferentes tipos de nucleotídeos, que são: Adenina (A), Timina (T), Citosina (C) e Guanina (G). Os nucleotídeos são unidos por meio de suas extremidades em uma fita de DNA, tendo suas bases projetadas para fora do esqueleto helicoidal da fita. Cada dupla hélice de DNA é estruturada em uma construção simples, sempre que houver A sobre uma das fitas, existirá um T sobre a outra fita, e cada C corresponderá a um G sobre a fita complementar (LODISH et al., 2005). Veja esquema abaixo:



A informação genética reside em sua seqüência e na ordenação linear dos nucleotídeos ao longo da fita. Essas informações encontram-se divididas em unidades normalmente, sendo divididos em 2 partes:

- Região Codificante: que determina que seqüência de aminoácidos a proteína terá;
- Região Reguladora: que controla quando e em que tipos de células essa proteína será produzida.

Os genes são organizados em códons, que é uma determinada seqüência de três nucleotídeos consecutivos do código genético, e que especifica um determinado aminoácido em uma proteína, iniciando ou parando a síntese protéica. Para confecção da proteína, dois processos acontecem para converter a informação contida no DNA. O primeiro, a transcrição, parte do gene do DNA codificante é copiado sob a forma de uma fita simples de ácido ribonucleico (RNA), a partir da dupla fita de DNA. A formação da cadeia de nucleotídeos de RNA tendo como molde o DNA é feito por meio da ação da RNA polimerase, que irá catalisar a ligação dos nucleotídeos. Essa fita de RNA é transportada para o citoplasma através do RNA mensageiro (mRNA). No citoplasma, o ribossomo, composta de RNAs e de proteínas se encarrega de efetuar o segundo processo que é a tradução. O ribossomo organiza e liga os aminoácidos seguindo uma ordem estabelecida, que é ditada pela seqüência do mRNA. O exon é uma seqüência polinucleotídica de um ácido nucléico que codifica a informação para a síntese protéica e que é copiada longitudinalmente, juntamente com outras seqüências para formar um RNA mensageiro (LODISH et al., 2005).

O mecanismo no qual o modelo de pareamento de bases a um molde pode ser conservativo ou semiconservativo. No sistema conservativo, as duas fitas filhas formam uma nova molécula fita dupla (dúplex) de DNA, permanecendo inalterado o duplex parental (fita existente). Enquanto no sistema semiconservativo, as fitas parentais (fita molde) seriam divididas e terá a formação de uma molécula duplex com a fita-filha pareada a ela. Assim, a cópia de uma fita-molde de DNA e a produção de fitas complementares é uma característica tanto da transcrição de DNA em RNA quanto da replicação de DNA.

Para iniciar a síntese de RNA e DNA é necessário precursores, que no caso do DNA é o deoxinucleosídeos 5'-trifosfato (dNTPs). Na formação das fitas, é necessário que seja feito em uma ordem, sendo a mesma para o DNA e RNA. A direção para confecção é a 5' → 3', pois o crescimento da cadeia resulta da formação de uma ligação fosfodiéster entre o oxigênio 3' de uma fita em crescimento e o fosfato  $\alpha$  de um dNTP. As DNA polimerases necessitam de uma fita curta de RNA ou DNA preexistente, podendo ser chamada de iniciador ou primer. Com um iniciador pareado à fita-molde, a DNA polimerase adiciona deoxinucleotídeos ao

grupamento hidroxil livre da extremidade 3' do iniciador, continuando a seqüência da fita molde. Quando o iniciador é um RNA, a fita-filha é formada será composta por RNA na extremidade 5' e por DNA na extremidade 3' (LODISH et al., 2005).

### **Alterações nas bases do DNA**

Ocasionalmente, podem ocorrer erros espontâneos, mutações ou polimorfismos, durante a replicação do DNA, gerando alterações na seqüência dos nucleotídeos. As mutações podem ocorrer sob diferentes formas: simples trocas de um nucleotídeo por outro; deleção; inserção ou inversão de um ou milhões de nucleotídeos do DNA de um cromossomo, ou a translocação de uma porção de DNA de um cromossomo para outro. Os genes mutados que codificam proteínas alteradas ou que não podem sofrer um controle adequado provocam uma série de doenças herdáveis (LODISH et al., 2005).

O polimorfismo de um único nucleotídeo (SNPs) constitui o tipo mais abundante e são, portanto, os mais úteis para a construção de mapas genéticos de alta resolução. Esses mapas genéticos nada mais são que a construção de uma ordem linear dos genes ao longo da extensão de um cromossomo. Encontramos outro tipo de polimorfismo que são formados pela recombinação ou por um mecanismo de deslizamento de um DNA - molde ou de uma seqüência recém-sintetizada, durante a replicação. Esse polimorfismo é denominado de repetições de seqüências simples (SSRs) ou microssatélites (LODISH et al., 2005).

Diversos polimorfismos vem sendo estudados e relacionados às doenças cardiovasculares, especificamente o polimorfismo do gene 894 (G<sup>894</sup>T), onde podem influenciar a expressão eNOS (MIYAMOTO et al., 1998; SHIMASAKI et al., 1998). O gene que codifica a eNOS está localizado ao longo do braço do cromossomo 7 e contém 26 exons abrangendo 21 kb de DNA genômico. O polimorfismo do gene 894 (G<sup>894</sup>T) no exon 7, resulta em uma troca de posição de nucleotídeos, alterando o códon, passando de CAG para GAT, modificando a substância que é produzida, tendo a partir de então a produção do aminoácido aspartato (na posição da enzima 298) ao invés de glutamato, que é produzido na posição 894, afetando a atividade da óxido nítrico sintase endotelial, com uma maior clivagem da eNOS quando na presença do aspartato, acarretando numa disfunção endotelial (TESAURO et al., 2000; ROSSI et al., 2003; ERBS et al., 2006).

Estudos avaliando a função da eNOS associam que o polimorfismo do gene G894T é responsável pelo desenvolvimento de várias doenças arteriais, sendo que alguns reportam diminuição na concentração de metabólitos de NO em sujeitos que apresentam essa variação



genética (SHIMASAKI et al., 1998, LI et al., 2004, MARRONI et al. 2005, ERBS et al., 2006, SPOTO et al., 2007). Estudos demonstram uma associação positiva entre o desenvolvimento de doenças cardiológicas como espasmos coronarianos, infarto do miocárdio e hipertensão com a presença do polimorfismo do gene da eNOS G894T (SHIMASAKI, et al., 1998; MIYAMOTO et. al., 1998; TSUJITA et al., 2001; PERIASWAMY et al., 2008). Uma das possibilidades é que este polimorfismo provoque redução da resposta dilatadora dependente do endotélio, e essa disfunção poderia justificar a ausência de redução de pressão arterial em resposta ao exercício físico em determinados indivíduos (ERBS et al., 2003).

Poucos trabalhos avaliaram exercício físico e esse polimorfismo. Kim et al. (2007) avaliou a resposta hipertensora em pacientes adultos de meia idade, com hipertensão em associação com o polimorfismo da eNOS G894T, mostrando que os portadores do alelo TT apresentam maior resposta hipertensora ao exercício. Enquanto que, mais recentemente, avaliou-se o efeito do exercício sobre a resposta vasodilatadora em adultos de meia idade e idosos, através de exercício isométrico de punho. Os autores verificaram que os portadores do alelo TT apresentavam atenuação na vasodilatação muscular em resposta ao exercício (DIAS et al., 2009). Deve-se ressaltar que em ambos os estudos o exercício empregado foi de maneira aguda

### **Tratamento Farmacológico da hipertensão arterial**

A utilização de fármacos na hipertensão arterial tem como função principal a redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares, ou seja, deve normalizar os níveis de pressão arterial bem como reduzir os eventos cardiovasculares fatais e não-fatais. Dessa forma, tanto o tratamento medicamentoso associado ou não ao tratamento não medicamentoso, visa a redução dos níveis de pressão arterial para valores inferiores a 140 mmHg de pressão arterial sistólica (PAS) e 90 mmHg de pressão arterial diastólica (PAD) (KANNEL, 1996; SYKOWSKY et al., 1996; PADWAL et al., 2001), e nos casos que o paciente apresenta alto risco cardiovascular (apresentando diabetes, insuficiência cardíaca e comprometimento renal), a recomendação da sociedade brasileira de hipertensão é para que redução a pressão arterial para níveis inferiores a 130/80 mmHg (PETERSON et al., 1995; KRUMHOLZ et al., 1997; UKPDS,1998; HANSSON et al., 1998; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

Para uma melhor adesão ao tratamento farmacológico, algumas medidas devem ser adotadas, tanto na escolha da medicação, quanto para uso diário do paciente. Algumas dessas medidas são: explicação sobre a doença, que assintomática e crônica e o porquê do tratamento

da doença; o medicamento ser administrado via oral e ser bem tolerado; informar detalhadamente ao paciente os eventuais efeitos adversos dos medicamentos prescritos e os ajustes necessários na posologia com o decorrer do tempo; preferência por dose única diária a ser tomada pelo paciente; iniciar com baixas doses, verificando a existência de efeitos adversos; considerar a associação de medicamentos quando do paciente estiver no estágio 2 e 3 de hipertensão, e que não estão respondendo à monoterapia.

Para o uso clínico são encontradas as seguintes classes de antihipertensivos:

1. Diuréticos;
2. Inibidores adrenérgicos:
  - Ação central – agonistas alfa-2 centrais;
  - Betabloqueadores – bloqueadores beta-adrenérgicos;
  - Alfabloqueadores – bloqueadores alfa-1-adrenérgicos;
  - Alfabloqueadores e Betabloqueadores
3. Bloqueadores dos canais de cálcio;
4. Inibidores da ECA;
5. Bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina II;
6. Vasodilatadores diretos.

É possível a administração de diferentes tipos de medicamentos bem como a combinação entre os medicamentos para tentar controlar a pressão arterial, pois são diferentes mecanismos de ação que cada classe possui. A escolha da medicação deve ser individualizada, preferencialmente adotando a monoterapia inicialmente, verificando o mecanismo fisiopatogênico, bem como o perfil de segurança do medicamento (as possibilidades de reações adversas, sua interação medicamentosa e comodidade ao paciente), e principalmente no Brasil, a condição socioeconômica do paciente.

Segundo a SBC, tem se a adoção dos seguintes antihipertensivos na monoterapia inicial: diuréticos (SHEP, 1991; PSATY et al., 1997; WRIGHT et al., 1999); betabloqueadores (MRC, 1985; PSATY et al., 1997; WRIGHT et al., 1999; UKPDS,1998); bloqueadores dos canais de cálcio (NEAL et al, 2000; HANSSON et al., 1999; STASSEN et al., 1997; BROWN et al., 2000; HANSSON et al., 2000); inibidores da ECA (UKPDS,1998; HANSSON et al., 1999; HANSSON et al., 1999; YUSUF et al., 2000; NEAL et al., 2000; PROGRESS COLLABORATIVE GROUP, 2001); bloqueadores do receptor AT1 (DAHLOF et al., 2002; LINDHOLM et al., 2002). Enquanto que na politerapia, as associações eficazes são: diuréticos e diuréticos de diferentes mecanismos de ação; medicamentos de ação central e

diuréticos; betabloqueadores e diuréticos; bloqueadores do receptor AT1 e diuréticos; inibidores da ECA e diuréticos; bloqueadores dos canais de cálcio e betabloqueadores; bloqueadores dos canais de cálcio e inibidores da ECA; bloqueadores dos canais de cálcio e bloqueadores do receptor AT1 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

### **Exercício Físico e o uso de Drogas Antihipertensivas**

A associação da prática regular de atividade física ao tratamento medicamentoso em pacientes hipertensos tem sido pouco estudada. Estudo prévio mostra que alguns medicamentos antihipertensivos como beta bloqueadores e diuréticos diminuem a capacidade de executar o exercício físico (FAGARD et al., 1993). Poucos dados estão disponíveis para as outras drogas antihipertensivas, mas mostram que qualquer que seja o mecanismo de vasodilatação, drogas que reduzem a resistência vascular não apresentaram nenhum efeito na capacidade de exercício. Em pacientes hipertensos fisicamente ativos, o tratamento antihipertensivo deveria induzir um controle adequado da pressão arterial em repouso e durante o exercício e não ter influencia negativa na performance do indivíduo (VAN BAAK et al., 1991).

## 2. HIPÓTESE E OBJETIVOS

Atualmente a questão genética vem sendo muito estudada visto que o polimorfismo do gene regulador da eNOS está envolvido com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, entre elas a hipertensão arterial.

A hipertensão arterial acomete 25 % da população e o seu controle se dá por intervenções farmacológicas e/ou por mudança de hábitos alimentares e exercício físico.

O exercício físico é uma ferramenta muito utilizada para o controle da hipertensão arterial, com diversos estudos demonstrando o significativo efeito hipotensor induzido pela prática de exercício físico, principalmente o aeróbio. Porém, o polimorfismo do gene eNOS pode explicar a ausência de hipotensão pós exercício em alguns voluntários com a hipertensão arterial.

Assim nossa hipótese foi avaliar se mulheres que apresentavam gene homozigoto GG para a enzima eNOS responderiam melhor a um programa de exercício físico quando comparadas a mulheres que apresentavam o polimorfismo contendo o alelo T.

Portanto, objetivo geral do trabalho foi avaliar os níveis pressóricos de mulheres no período do climatério, quando submetidas a um protocolo de treinamento aeróbio e sua correlação com a presença ou não do polimorfismo da eNOS na posição G894T.

Os protocolos experimentais tiveram os seguintes objetivos específicos:

- ❖ Estudar a efetividade do treinamento aeróbio na resposta hipotensora;
- ❖ Analisar o efeito do polimorfismo G894T sobre a concentração de NO.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### Participantes

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual Paulista - UNESP (protocolo número 1500/2008) e, após todos os participantes terem suas dúvidas respondidas, um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado.

Participaram do estudo 46 mulheres entre 40 e 74 anos de acordo com os seguintes critérios de inclusão:

Critérios de inclusão - Para serem incluídas no estudo, as participantes deveriam ter acima de 40 anos, serem sedentárias (exercício aeróbio regular  $\leq$  do que 2 sessões por semana e  $<$  20 minutos por sessão); não fumantes; não diabéticas (nível de glicose em jejum  $<$  110 mg/dl); média de pressão arterial sistólica (PAS) com duas visitas para medições de 140-159 e de pressão arterial diastólica (PAD) de 90-99 mmHg (SBH - Estágio 1 de hipertensão); ter um IMC  $<$  39,9 kg/m<sup>2</sup> evitando-se assim a interferência da obesidade severa (Obeso IV), e não ter nenhuma outra condição médica que poderia impedir a prática de exercício físico. Foi feita uma anamnese para a determinação da sua condição no climatério ou na menopausa, bem como estado de saúde físico, e a possível medicação das voluntárias.

As participantes foram divididas em dois grupos:

- 1) Normotensas (NT, n= 15)
- 2) Hipertensas (HT, n=31).

Todas as atividades foram realizadas nas dependências da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP Campus Rio Claro no Departamento de educação Física no Laboratório de atividade Física e Saúde. O laboratório é composto por duas bicicletas horizontais, três bicicletas verticais e duas esteiras elétricas. Durante a realização do estudo, as participantes foram supervisionadas dos profissionais de educação física.

### **Avaliação antropométrica**

O cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC) com base na avaliação antropométrica (peso e estatura) e que leva em consideração a razão entre o peso corporal e o quadrado da estatura ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) foi feito usando uma balança digital portátil marca Plenna<sup>®</sup> com precisão de 0,1kg, estando os indivíduos com roupas adequadas para fazer atividade física, ou seja, roupas leves e foi pedido para que subissem à balança descalços. A estatura foi mensurada através de uma fita métrica que foi fixada à parede e os indivíduos também ficaram descalços durante a mensuração.

### **Medida de pressão arterial**

Nos dias determinados para aferição da pressão arterial, os voluntários foram instruídos para que não realizassem exercício físico. Pela manhã, as voluntárias compareceram ao laboratório e após 15 minutos de repouso a pressão arterial foi aferida com o indivíduo na posição sentada utilizando um esfigmomanômetro aneróide (Tycos, Raleigh, NC, USA). Estas medições foram feitas pelo mesmo experiente avaliador no início e ao final do protocolo de treinamento de 24 semanas.

A Frequência cardíaca de repouso foi avaliada após 15 a 20 minutos de repouso, com as voluntárias na posição deitada. Essas mensurações foram feitas pré e pós o treinamento de 24 semanas

### **Avaliação cardiopulmonar**

A capacidade aeróbia foi determinada pela medida do  $\text{VO}_{2\text{max}}$ , que foi calculado de forma indireta utilizando-se o protocolo do teste de 1 milha (1600m), que consiste em caminhar essa distância na maior velocidade que o indivíduo conseguir manter, sem correr, em uma pista de atletismo de 400m. Ao final do teste, o tempo total gasto (em minutos) para percorrer essa distância e a frequência cardíaca final ao final do teste em batimentos por minuto (bpm) foram utilizadas para o cálculo, a partir da equação (ROCKPORT, 1987):

$$\text{VO}_{2\text{max}} = 132,853 - (0,0769 \times \text{PC} \times 2,2) - (0,3877 \times \text{Idade}) + (6,315 \times \text{Sexo}) - (3,2649 \times \text{T}) - (0,1565 \times \text{FC})$$

Nesta equação o  $VO_{2max}$  é expresso em ml/kg/min; PC é o peso corporal em libras; Idade é utilizada em anos; Sexo: mulher = 0 e homem = 1; T = tempo gasto é expresso em minutos e centésimos de minutos; e FC Final é a frequência cardíaca ao final do teste em batimentos por minuto. Além do cálculo do  $VO_{2max}$ , o protocolo do teste também oferece uma tabela normativa (veja a seguir), para que se possa classificar a condição aeróbia do participante de acordo com o tempo total gasto para cobrir a distância de uma milha (MORROW JR, et al., 2003).

**Tabela 2.** Valores normativos para o Teste de Caminhada de uma Milha, para pessoas com idade entre 30 e 69 anos. Os valores representam os minutos e segundos, respectivamente.

<b>Classificação</b>	<b>Masculino</b>	<b>Feminino</b>
Excelente	< 10:12	< 11:40
Bom	10:13 – 11:42	11:41 – 13:08
Média alta	11:43 – 13:13	13:09 – 14:36
Média baixa	13:14 – 14:44	14:37 – 16:04
Regular	14:45 – 16:23	16:05 – 17:31
Ruim	> 16:24	> 17:32

MORROW JR et al., 2003

### **Concentração plasmática de nitrato e nitrito ( $NO_x^-$ )**

Amostras de plasma foram utilizadas para determinação da produção endógena de NO por meio da quantificação dos ânions nitrato ( $NO_2^-$ ) e nitrito ( $NO_3^-$ ), produtos terminais da oxidação do NO. As amostras foram ultra filtradas por meio de micro filtros (Microcon Centrifugal Filter Units, 10 kDa; Millipore, Bedford, MA, USA). Após o processo de filtragem as concentrações de  $NO_x^-$  foram determinadas utilizando kit comercial (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) seguindo as instruções do fabricante. As absorbâncias dos picos foram determinadas a 540 - 550 nm.

### **Extração do DNA Genômico**

A extração do DNA genômico foi realizada pela técnica de fenol-clorofórmio (Davis, et al., 1986) modificada. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 10 min, o plasma descartado e os eritrócitos lisados com uma mistura de soluções contendo  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,144M e  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  0,01M. Após centrifugação o sobrenadante foi desprezado, a seguir, a solução denominada TKM1 (Tris-HCl 10mM; pH 7,6; KCl 10mM;  $\text{MgCl}_2$  10mM; EDTA 20mM) foi adicionada ao precipitado juntamente com 1 gota de Triton X-100. As amostras, depois de homogeneizadas, foram centrifugadas a 3000 rpm por 20 min e posteriormente o sobrenadante foi descartado, obtendo-se o precipitado de leucócitos.

Para lisar os leucócitos, foram adicionados 400 $\mu\text{l}$  da solução TKM2 (Tris-HCl 10 mM pH 7,6; KCl 10mM;  $\text{MgCl}_2$  10mM; NaCl 0,4M; EDTA 20mM) e 25 $\mu\text{l}$  de SDS 10% e incubado à 55°C por 30 min. Após esse período, 180 $\mu\text{l}$  de NaCl 5M foram adicionados à solução anterior e mantida em temperatura ambiente por 15 min. A amostra foi centrifugada a 12000 rpm por 5 min, e o sobrenadante transferido para outro tubo, onde foi adicionando 400 $\mu\text{l}$  de fenol pH 8,0 e igual volume de uma solução clorofórmio/álcool isoamílico (proporção 24:1), seguido de homogeneização, centrifugação e transferência do sobrenadante para outro tubo. Para a completa remoção de proteínas da amostra, 900 $\mu\text{l}$  da mistura clorofórmio/álcool isoamílico foram adicionados ao tubo, centrifugado e o sobrenadante transferido para um novo tubo. Para a precipitação do DNA, foram adicionados 10% do volume do sobrenadante de acetato de sódio 3M pH 5,3 e 1ml de etanol absoluto gelado. O tubo foi centrifugado a 12000 rpm por 5 min, o sobrenadante foi desprezado e o DNA precipitado foi lavado com 1ml de etanol 70% gelado. Posteriormente, o DNA foi solubilizado em água deionizada estéril e quantificado em equipamento NanoDrop® ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc, WILMINGTON, DE, USA) e a análise qualitativa realizada em gel de agarose 1,0%.

### **Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica de amplificação de DNA *in vitro* proposta por SAIKI et al. em 1985. A reação, catalisada por uma enzima termoestável (*Taq* DNA polimerase), utiliza primers que se hibridizam em fitas opostas de regiões específicas do DNA, delimitando o fragmento. A reação é levada ao termociclador e a



amplificação desta região, a partir de uma pequena quantidade de DNA, ocorre em decorrência dos repetidos ciclos de temperatura: 96°C - desnaturação do DNA; 56°C - anelamento dos *primers*, e 72°C – extensão, etapa em que há a incorporação dos nucleotídeos, resultando em um acúmulo exponencial do fragmento.

Para a reação de amplificação foram utilizados os seguintes componentes:

**Tabela 3:** Composição das reações para amplificação das regiões polimórficas.

Componentes	eNOS G894T Volumes (µl)
Tampão (10X)	3,0
MgCl <sub>2</sub> (50mM)	1,2
dNTP's	0,5
<i>Primer Sense</i> (10µM)	0,5
<i>Primer Antisense</i> (10 µM)	0,5
<i>Taq</i> DNA Polimerase (5U/µl)	0,2
DNA (200 ng)	1,0
dH <sub>2</sub> O	23,1
<b>Volume Final (µl)</b>	<b>30,0</b>

**Tabela 4:** As condições das reações para amplificação do polimorfismo da eNOS G894T foram:

Região: eNOS G894T									
Desnaturaçã		Desnaturaçã		Anelamento		Extensã		Extensã Final	
Inicial		35 ciclos							
T (°C)	Tempo	T (°C)	Tempo	T (°C)	Tempo	T (°C)	Tempo	T (°C)	Tempo
96°C	2 min	96°C	30 s	56°C	60 s	72°C	60 s	72°C	5 min

T (°C) : Temperatura

**Tabela 5:** Os Primers e Enzima usados para o estudo do polimorfismo da eNOS G894T foram:

Gene	Seqüência dos Primers (5' → 3')	Produto PCR	Enzima	Produto Digestão
eNOS (Glu298Asp)	S - AAGGCAGGAGACAGTGGATGGA AS - CCCAGTCAATCCCTTTGGTGCTCA	<b>248 pb</b>	<i>Mbol</i>	<b>158pb + 90 pb</b>

A determinação do polimorfismo da eNOS G894T foi realizada pela PCR seguida de análise de restrição. Após a confirmação da amplificação, o produto da PCR foi digerido utilizando endonucleases de restrição apropriadas para cada sítio polimórfico. As enzimas utilizadas e padrões descritos abaixo:

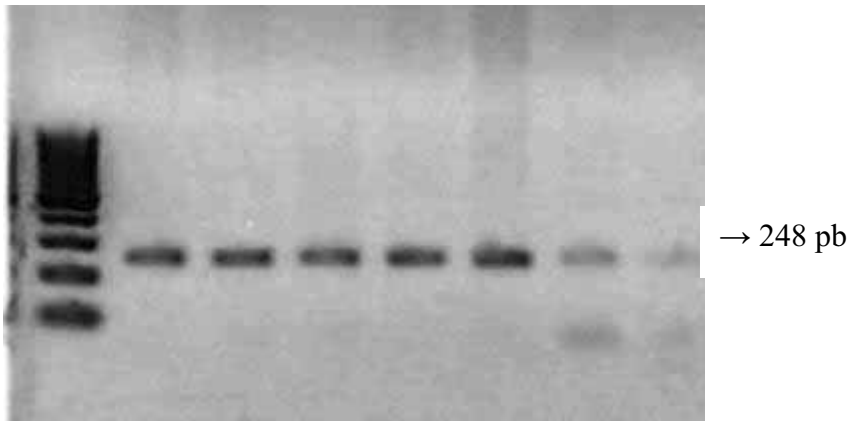
Para a realização da reação de digestão foram utilizados 5,0 µl do produto amplificado mais 10 µl do Mix (1,5 µl tampão 10X + 0,2 µl enzima {2U} + 8,3 µl H<sub>2</sub>O deionizada). A mistura foi conduzida ao banho-maria a 37°C *overnight* (16 horas). O produto foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1000 a 2,5% (Invitrogen, Carlsbad CA, USA), corado com brometo de etídio, visualizados sob luz ultravioleta e fotografado.

O alelo G produz um fragmento de 158 pb e o alelo T produz um fragmento de 90 pb. Desta forma dois grupos foram formados, os portadores de alelo G sendo caracterizado como GT+GG e os portadores de alelo T, sendo caracterizado como TT. Cada um deste grupo foi dividido conforme a classificação dos valores de pressão arterial: normotenso e hipertenso. A análise gênica de todos os participantes foi feita no Hemocentro da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

### Polimorfismo G894T

SNP: rs1799983:CCCCTGCTGCTGCAGGCCCCAGATGA[G/T]CCCCCAGAACTCTTCCTTCTGCCC

Produto Amplificado:



Perfil de Digestão: enzima Mbol - /GATC

M – Marcador de Peso Molecular Ladder: 50 pb

N – Homozigoto Normal (G/G)

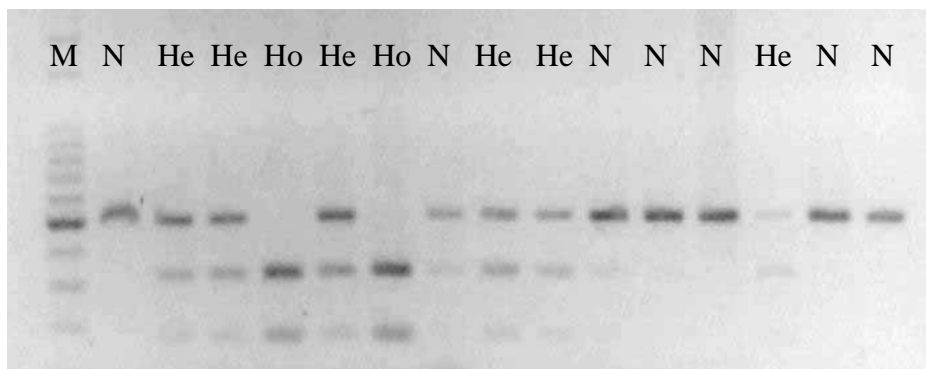
248pb

He – Heterozigoto (G/T)

248pb + 158pb + 90 pb

Ho – Homozigoto Mutante (T/T)

158pb + 90pb

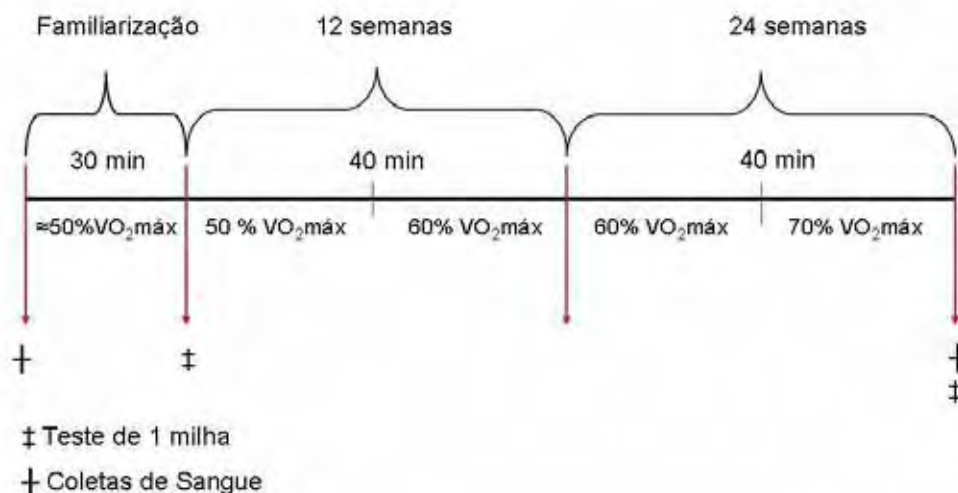


## Protocolo de Treinamento

As participantes realizaram três sessões semanais de treinamento físico, evitando-se a realização dos exercícios em dias consecutivos. O programa de treinamento consistiu de sessões com duração de 60 minutos por um período de 24 semanas no qual as voluntárias se exercitaram em esteiras, bicicletas e/ou caminharam nas dependências da universidade supervisionadas por um profissional de educação física. As sessões iniciais de treinamento físico (as 4 primeiras sessões) tiveram a duração de 30 minutos, na intensidade que a participante sentissem à vontade, sem causar grande esforço e para que ocorresse adaptação fisiológica ao treinamento físico. Após as primeiras quatro sessões, o tempo de treinamento aumentou para 40 minutos, na intensidade de 50 – 60 do  $\text{VO}_2$  máx.

Com três meses de treinamento, os participantes passaram por nova avaliação do  $\text{VO}_2$  máx para corrigir a intensidade dos treinamentos em decorrência de uma possível adaptação dos participantes ao treinamento. Com a correção da intensidade, as voluntárias passaram a se exercitar na intensidade de 60 – 70% do  $\text{VO}_2$  máx. E Os incrementos na duração e intensidade do treinamento aconteceram apenas se os participantes completaram suas prescrições de exercício por três sessões seguidas, sem apresentarem sinais de fadiga excessiva ou sintomas cardiovasculares. Veja abaixo, em detalhes o quadro esquemático do protocolo de treinamento.

## Programa de treinamento Físico



Representação esquemática do Programa de treinamento físico em voluntárias.

O controle da intensidade do exercício quando realizado em bicicleta ergométrica foi feito através da frequência cardíaca de reserva (FCr), utilizando-se a variação entre 50 a 65% FCr, de acordo com a zona alvo, determinada pelo método de Karvonen (KARVONEN et al., 1957; McARDLE et al., 2003).

Para assegurar a integridade das voluntárias, a pressão arterial foi monitorada no início de cada sessão de treinamento. Antes de começar a atividade física, elas eram instruídas a colocar o frequencímetro Polar<sup>®</sup>, permitindo assim que a voluntária controlasse a intensidade do exercício físico dentro da zona alvo do treinamento.

Antes de iniciar o protocolo de treinamento foram feitas avaliações de composição corporal e da capacidade aeróbia das voluntárias, se após as 24 semanas de treinamento, as voluntárias passaram por um re-teste para verificar as possíveis alterações decorrentes do protocolo de treinamento. A pressão arterial foi aferida em todas as sessões, porém para fazer o cálculo inicial e final dessas avaliações foi utilizada a média de três aferições obtidas na primeira semana de treinamento e na semana de re-avaliação (final das 24 semanas de treinamento) três novas medidas feitas ao longo da última semana.

### **Análise Estatística**

Os valores experimentais foram expressos como média  $\pm$  S.E.M. de n experimentos indicados em cada caso. Análise de variância (ANOVA) seguida de pós teste de Tukey foram empregados para avaliar diferenças entre os diferentes grupos experimentais. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos.

#### 4. RESULTADOS

As voluntárias que participaram do nosso estudo estavam na classificação de IMC (índice de massa corporal) de sobrepeso (OMS, 1998). Além disso, as voluntárias estavam no período do climatério ou menopausa. O grupo normotenso (n=14) apresenta média de idade de  $52,7 \pm 1,7$  anos e o grupo hipertenso (n=32) apresenta média de idade de  $59,9 \pm 1,4$  anos.

Para os parâmetros antropométricos das voluntárias apresentaram pequenas alterações, mas que não foram estatisticamente significantes após um programa de 24 semanas de treinamento físico aeróbio. O peso corporal apresentou ligeira redução para ambos os grupos de voluntárias, sendo essa redução de 0,1% para o grupo de voluntárias normotensas e 1,4% para o grupo de voluntárias hipertensas, mas sem apresentar diferença estatística significativa. O treinamento físico por 24 semanas não modificou o IMC, apresentando aumento de 0,4% para as voluntárias normotensas e redução de 1,5% para as voluntárias hipertensas. A figura 2 ilustra esses dados.

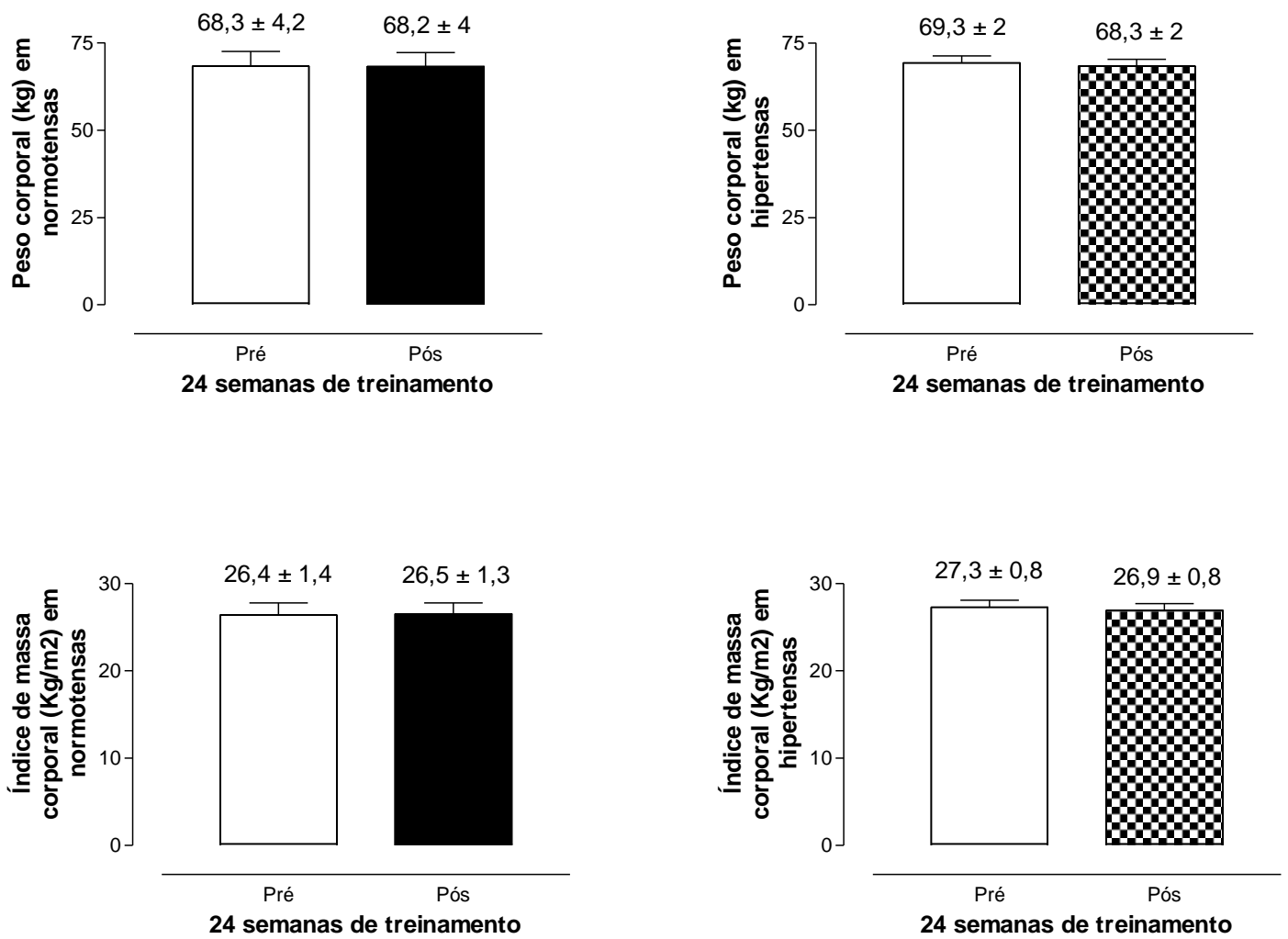


Figura 2. Valores de índice de massa corporal e de peso corporal de voluntárias normotensas e hipertensas antes e após um programa de treinamento físico aeróbio por 24 semanas. Os valores representam as médias  $\pm$  SEM para 14 a 32 mulheres respectivamente.

As figuras 3 e 4 mostram os valores de pressão arterial sistólica e diastólica de voluntárias normotensas e hipertensas antes e após um programa de treinamento físico por 24 semanas. Podemos observar que o programa de treinamento físico empregado foi efetivo em reduzir os níveis pressóricos, de maneira significativa tanto para a pressão arterial sistólica (6,3% para as normotensas e 7,5% para as hipertensas) quanto para a diastólica (9,5% para as normotensas e 10,4% para as hipertensas).

O protocolo de treinamento conseguiu aumentar a produção óxido nítrico, para ambos os grupos. As voluntárias normotensas apresentaram um aumento de 64,3% nos valores de nitrito/nitrato, enquanto que as voluntárias hipertensas tiveram um aumento de 41,3% nos valores de nitrito/nitrato, após as 24 semanas de treinamento. Esse aumento foi estatisticamente significativo em ambos os grupos. A figura 5 ilustra esses dados.



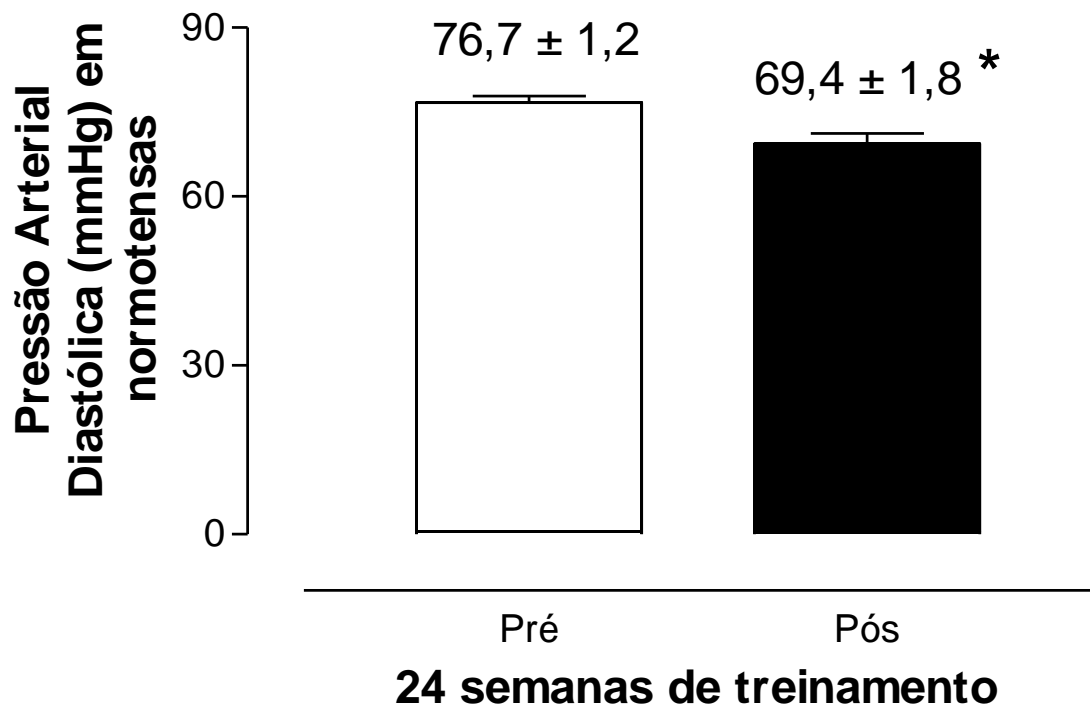
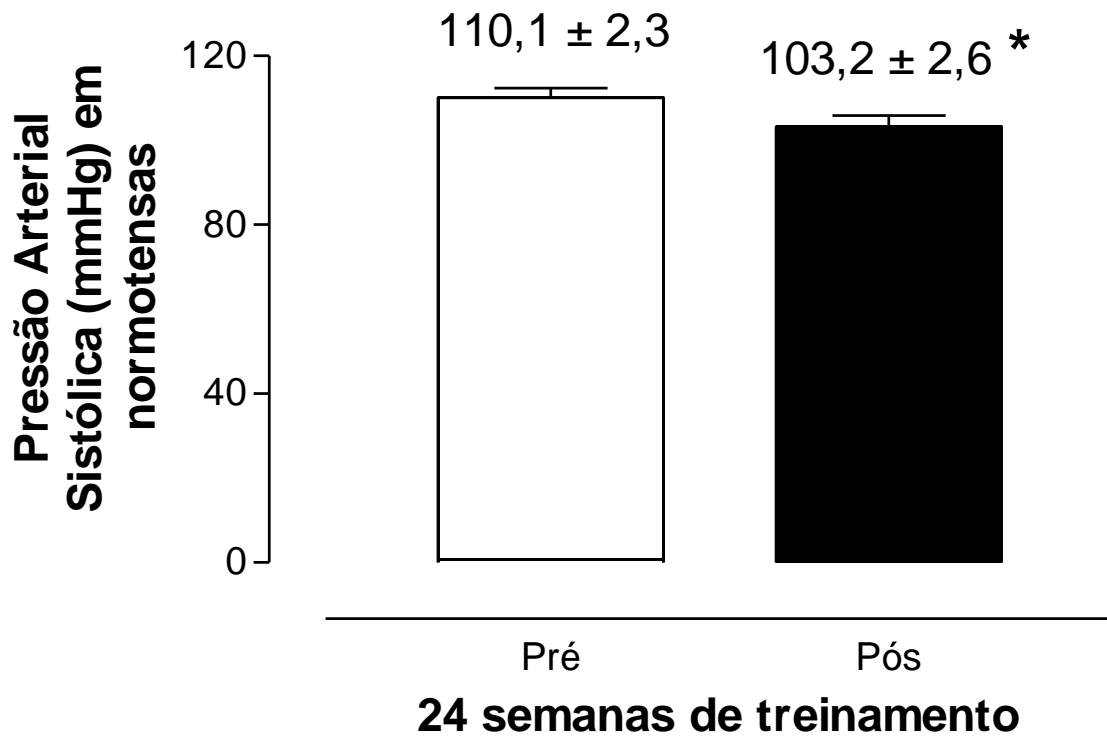


Figura 3. Valores de pressão arterial sistólica e diastólica de voluntárias normotensas antes e após um programa de treinamento físico aeróbio. Os valores representam as médias  $\pm$  SEM (n=14 mulheres). \*  $P < 0,05$

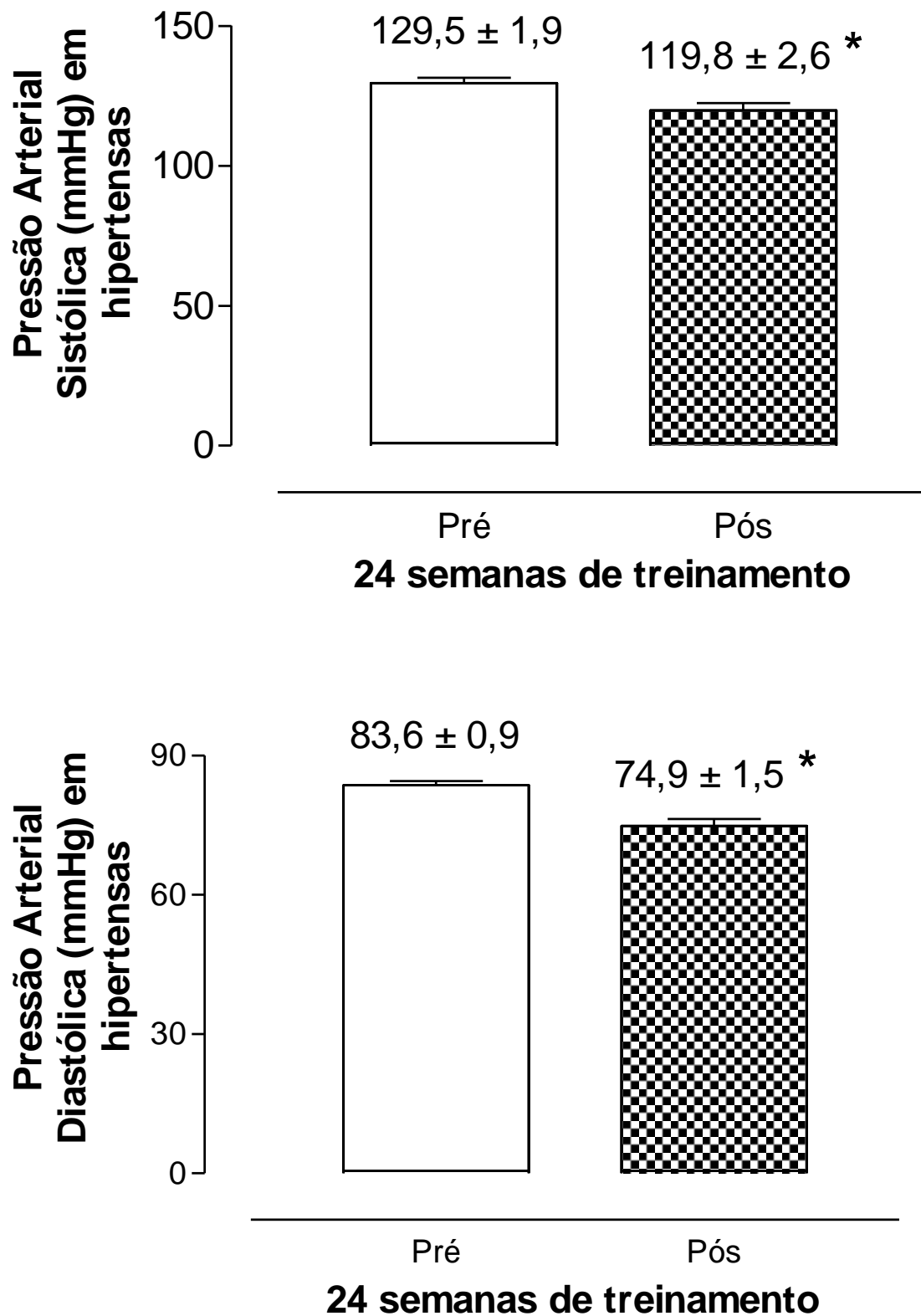


Figura 4. Valores de pressão arterial sistólica e diastólica de voluntárias hipertensas antes e após um programa de treinamento físico aeróbio. Os valores representam as médias  $\pm$  SEM (n= 31 mulheres). \*  $P < 0,05$

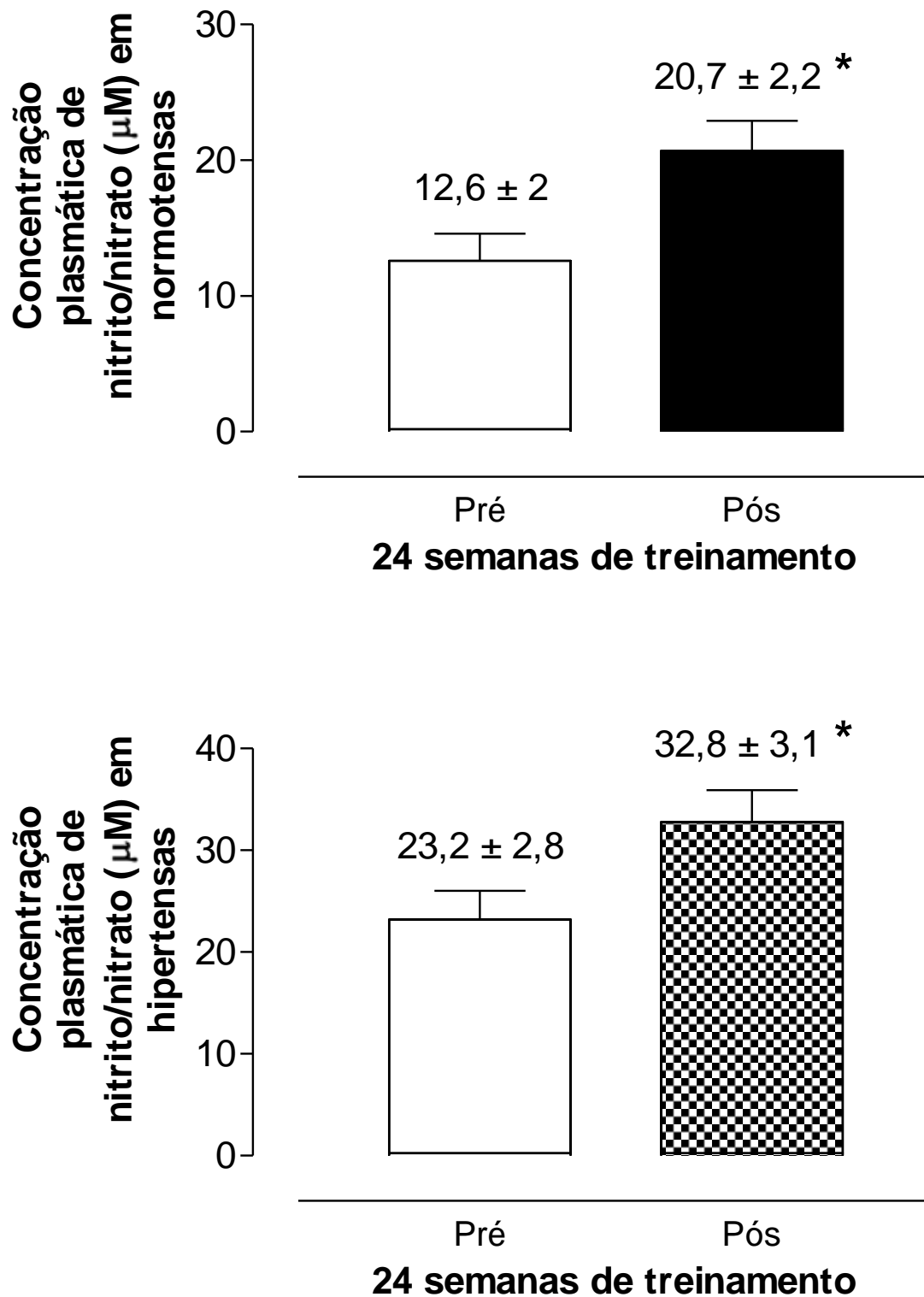


Figura 5. Concentração plasmática de nitrito/nitrato de voluntárias normotensas e hipertensas antes e após um programa de treinamento físico aeróbio. Os valores representam as médias  $\pm$  SEM para 14 a 32 mulheres, respectivamente. \*  $P < 0,05$

Os valores de  $VO_2$  máx não foram diferentes quando comparamos antes e após o programa de treinamento físico em voluntárias normotensas (pré:  $29,6 \pm 1,6$  ml/kg/min e pós:  $29,7 \pm 1,7$  ml/kg/min), e em voluntárias hipertensas (pré:  $25,1 \pm 0,9$  ml/kg/min e pós:  $26 \pm 1,1$  ml/kg/min). Após as 24 semanas de treinamento físico, os valores de  $VO_2$  máx das voluntárias hipertensas foi 12,45% menores quando comparadas as voluntárias normotensas.

Quando analisado o tempo de execução do teste de 1 milha, encontramos redução significativa apenas para as voluntárias hipertensas ( redução de 3,1 %), enquanto que o grupo normotensa não foi estatisticamente significante. Os dados estão ilustrados na figura 6.

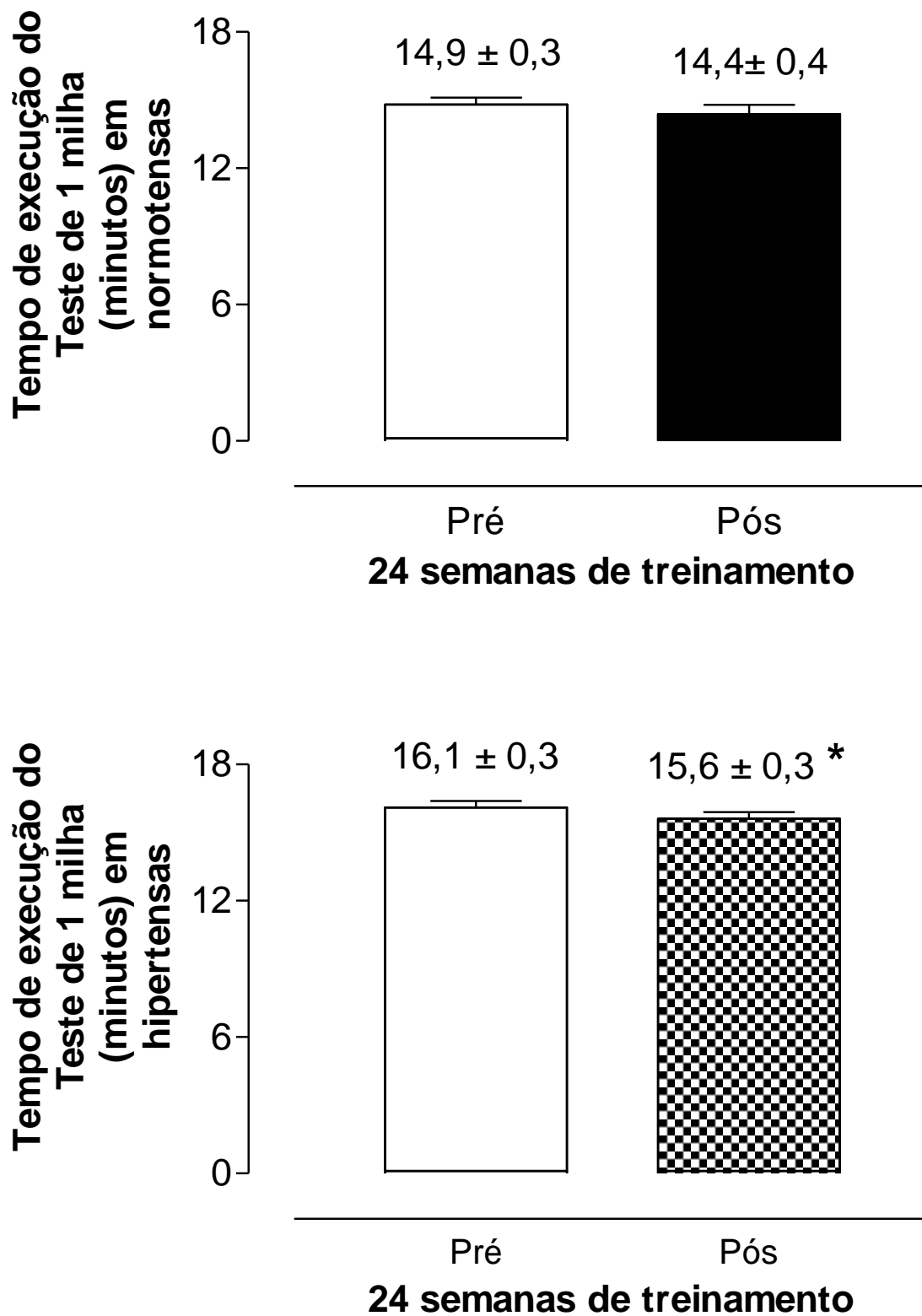


Figura 6. Tempo de execução do teste de 1 milha de voluntárias normotensas e hipertensas antes e após um programa de treinamento físico aeróbio (24 semanas). Os valores representam as médias  $\pm$  SEM para 14 a 32 mulheres. \*  $P < 0,05$

Todas as voluntárias foram avaliadas para o polimorfismo da expressão da eNOS no gene G894T com base nas amostras de DNA. Após análise de restrição foi possível identificar três genótipos: GG ( 42,85% e 40,625% ), GT (42,85% e 56,25%) e TT ( 14,3% e 3,125%) no grupo normotensa e hipertensa, respectivamente. Os genótipos GT e TT foram agrupados por uma questão estatística, uma vez que o alelo TT possui uma baixa frequência na população estudada. Tabela 6 mostra essa distribuição para os genótipos.

**Tabela 6** – Distribuição do polimorfismo G894T no gene da eNOS.

Genótipo	eNOS G894T	
	Normotenso (n=14)	Hipertenso (n=32)
GG (N)	6 (42,85%)	13 (40,625%)
GT (He)	6 (42,85%)	18 (56,25%)
TT (Ho)	2 (14,3%)	1 (3,125%)
Portador do alelo T	8 (57,15%)	19 (59,375%)

Onde: N- normal (genótipo selvagem); He – heterozigoto; Ho – homozigoto mutante; e Portador do alelo T (GT+TT)

A partir das análises genéticas, as voluntárias normotensas foram divididas em dois subgrupos de acordo com o polimorfismo genético. O primeiro subgrupo é o homozigoto selvagem GG (n= 6). O outro subgrupo é o que apresenta o alelo recessivo T (n=8). As voluntárias hipertensas também foram divididas em dois subgrupos, portador do alelo T (GT+TT, n=19) e não portador do alelo T (GG, n=13).

As figuras 7 e 8 ilustram os valores de pressão arterial sistólica e diastólica das voluntárias normotensas com ou sem polimorfismo antes e após o programa de treinamento físico de 24 semanas. O grupo GG não apresentou alteração significativa tanto para a pressão arterial sistólica quanto para pressão arterial diastólica. O subgrupo com o polimorfismo, GT+TT apresentou redução estatisticamente significativa na pressão arterial diastólica, sendo essa redução de 10,2%. Contudo a pressão arterial sistólica não foi alterada significativamente, mesmo apresentando uma redução de 6,6%.

As figuras 9 e 10 ilustram os valores de pressão arterial sistólica e diastólica das voluntárias hipertensas com ou sem polimorfismo antes e após um programa de treinamento físico de 24 semanas. O subgrupo sem o alelo T, subgrupo GG, obteve uma redução estatisticamente significativa na pressão arterial diastólica (13,3%) e da pressão arterial sistólica (9,5%).

A pressão arterial sistólica do subgrupo GT+TT foi modificada após o programa de treinamento, apresentando redução de 6,1%. Também foi observado redução na pressão arterial diastólica, sendo essa redução de 8,6%. Essas reduções foram estatisticamente significantes.

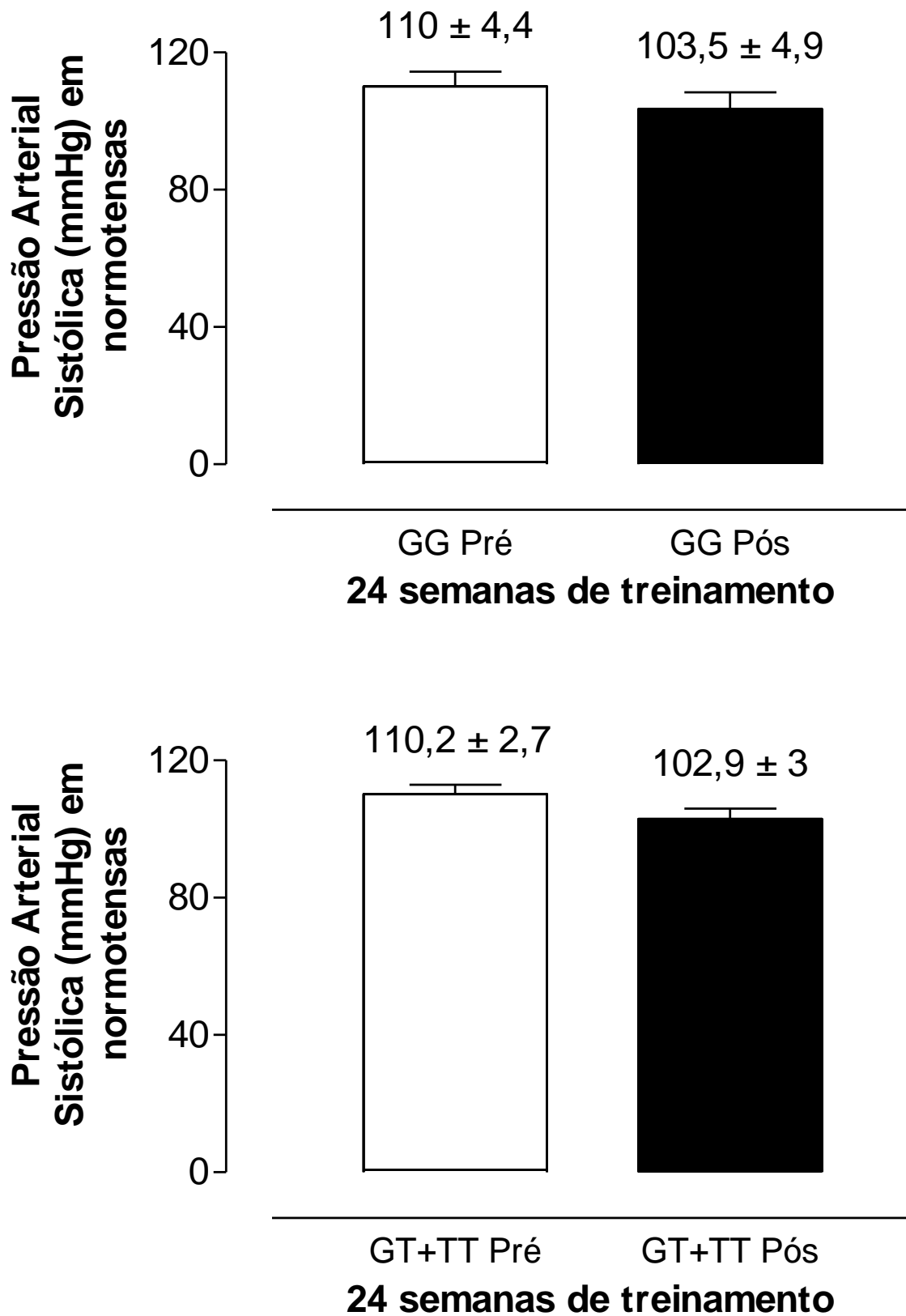


Figura 7. Pressão arterial sistólica para as voluntárias normotensas com o alelo GG e GT+TT antes e após um programa de treinamento físico aeróbio (24 semanas). Os valores representam as médias  $\pm$  SEM para 6 e 8 voluntárias respectivamente. \*  $P < 0,05$ .



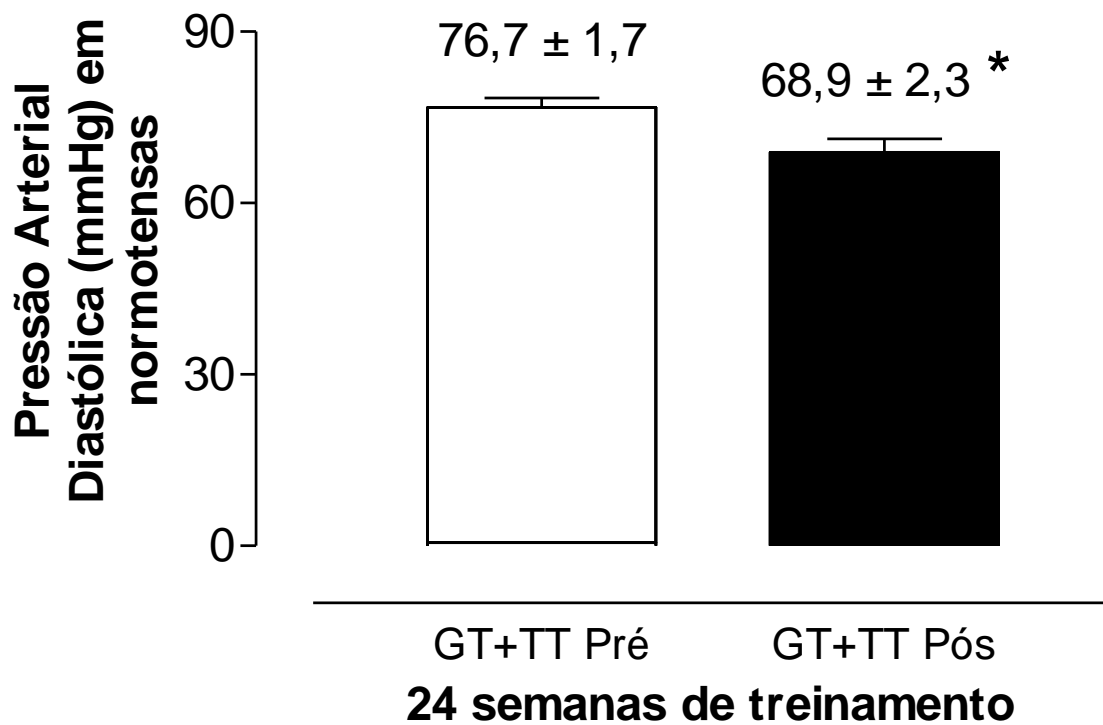
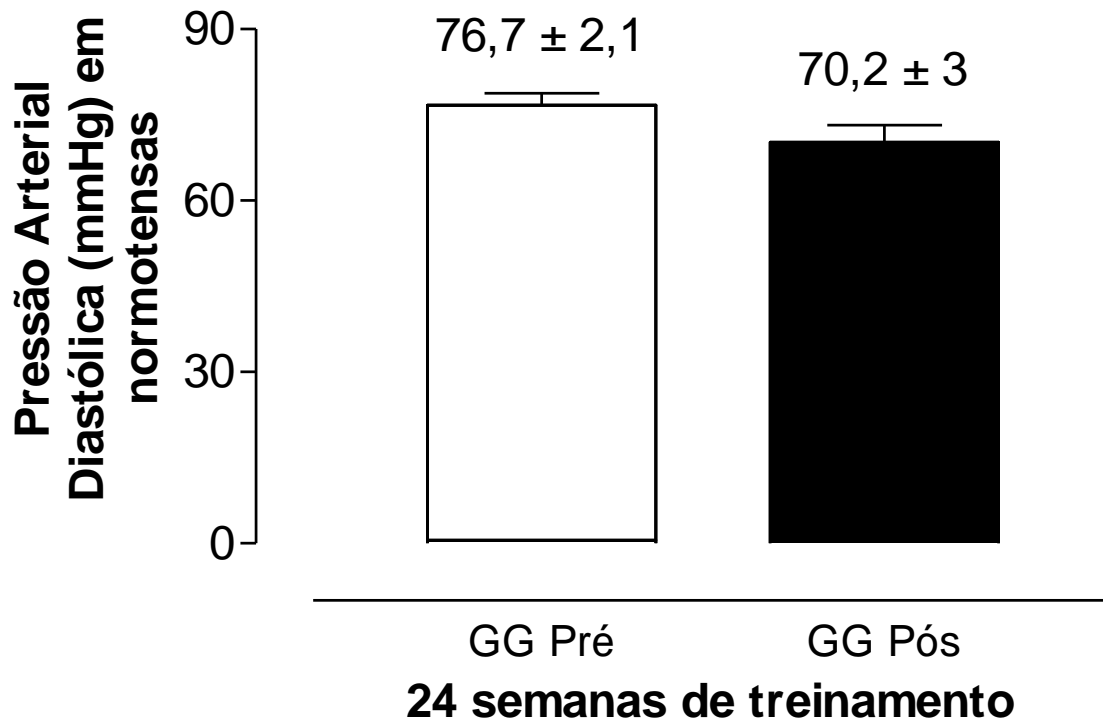


Figura 8. Pressão arterial diastólica para as voluntárias normotensas com o alelo GG e GT+TT antes e após um programa de treinamento físico aeróbio (24 semanas). Os valores representam as médias  $\pm$  SEM para 6 e 8 voluntárias respectivamente. \*  $P < 0,05$ .

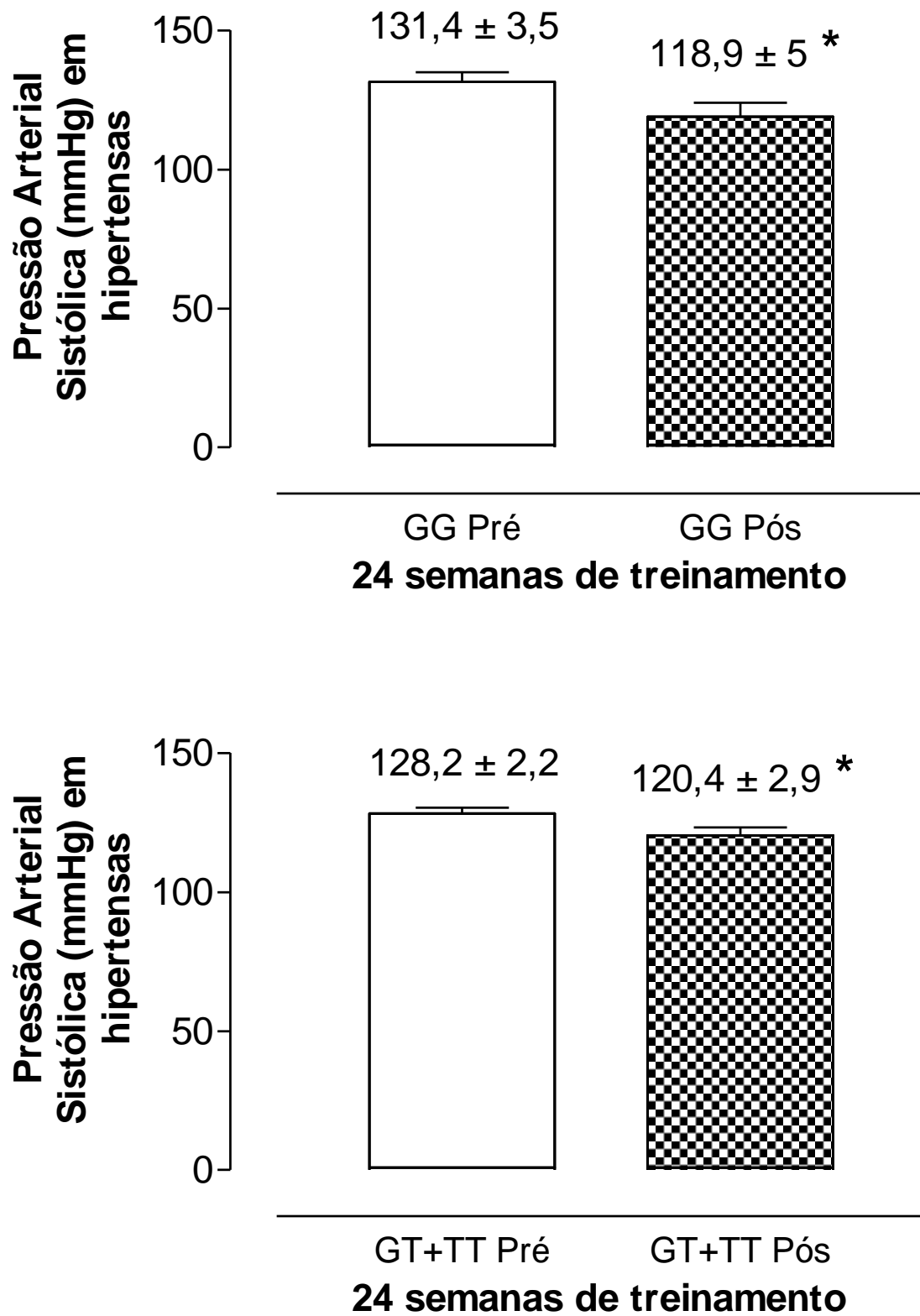


Figura 9. Pressão arterial sistólica para as voluntárias hipertensas com o alelo GG e GT+TT antes e após um programa de treinamento físico aeróbio (24 semanas). Os valores representam as médias  $\pm$  SEM para 13 e 19 voluntárias respectivamente. \*  $P < 0,05$

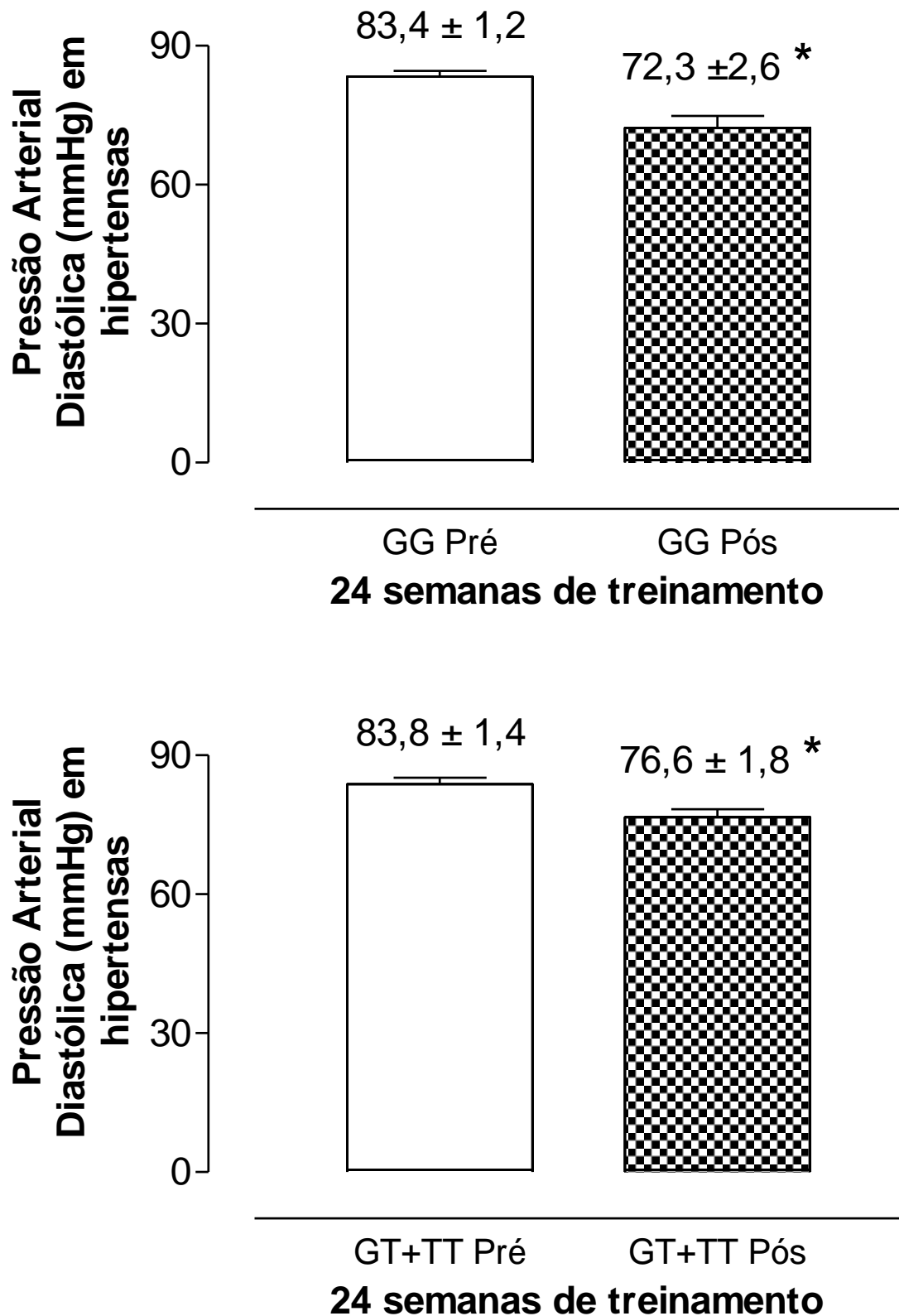


Figura 10. Pressão arterial diastólica para as voluntárias hipertensas com o alelo GG e GT+TT antes e após um programa de treinamento físico aeróbio (24 semanas). Os valores representam as médias  $\pm$  SEM para 13 e 19 voluntárias respectivamente. \*  $P < 0,05$

## CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE NITRITO/NITRATO

O exercício físico é um potente estímulo para a produção de NO pelas células endoteliais, aumentando as suas concentrações plasmáticas, permitindo assim, um aumento na resposta de relaxamento, atuando numa redução da pressão arterial.

### Normotensas

O programa de treinamento físico promoveu elevação significativa nos níveis plasmáticos de  $\text{NO}_x^-$  (95,5%) no grupo de voluntárias normotensas com genótipo GG. O subgrupo GT+TT também apresentou na produção nitrito/nitrato (45,2%) após o programa de treinamento, mas essa diferença não atingiu significância estatística. A figura 11 ilustra esses dados.

### Hipertensas

O treinamento físico promoveu elevação significativa da concentração de nitrito/nitrato nas voluntárias com o genótipo GG (70,6%). O subgrupo GT+TT, obteve um aumento de 12% na produção de nitrito/nitrato após 24 semanas de treinamento. Entretanto esse aumento não foi estatisticamente significativo. A figura 12 ilustra esses dados

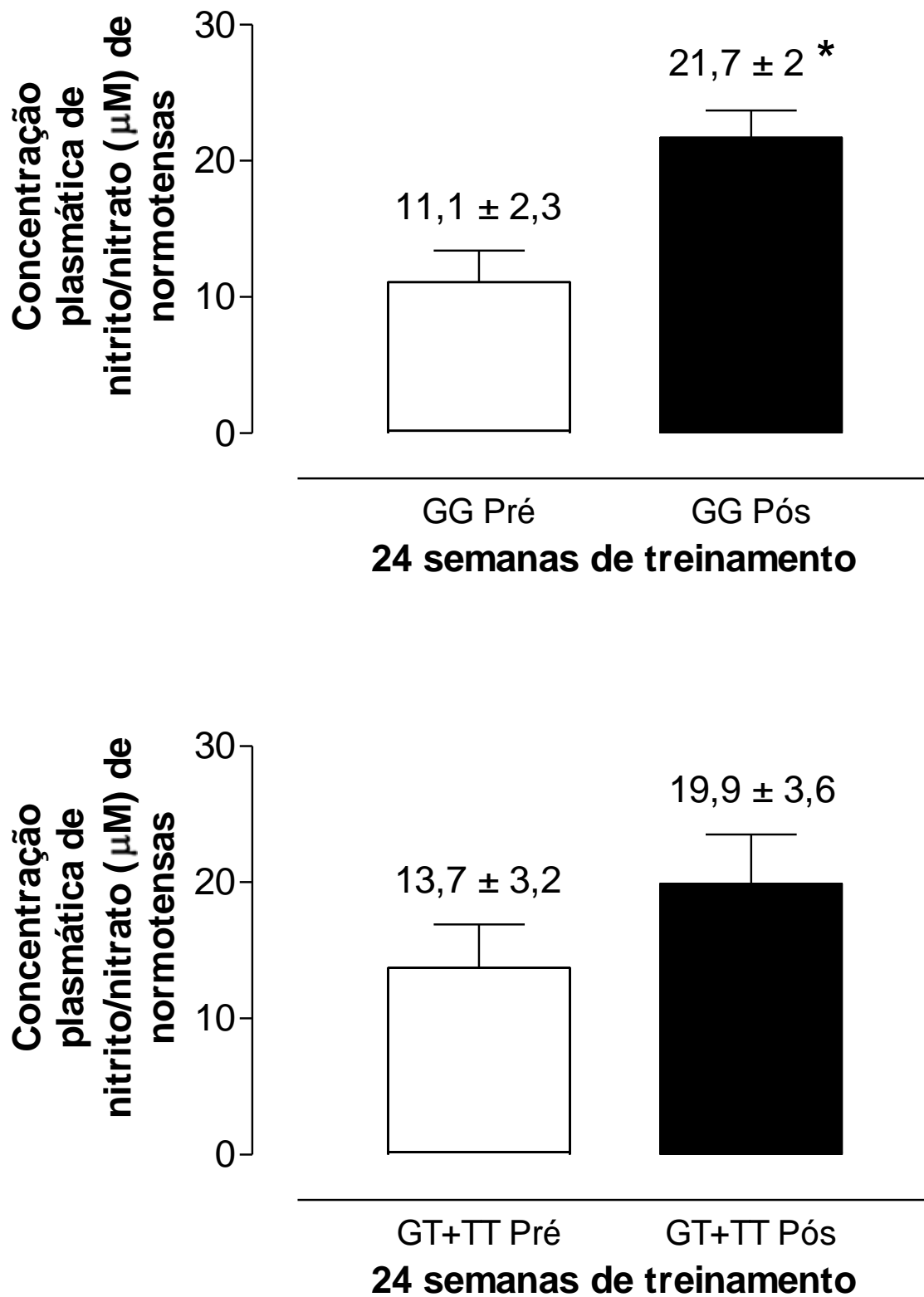
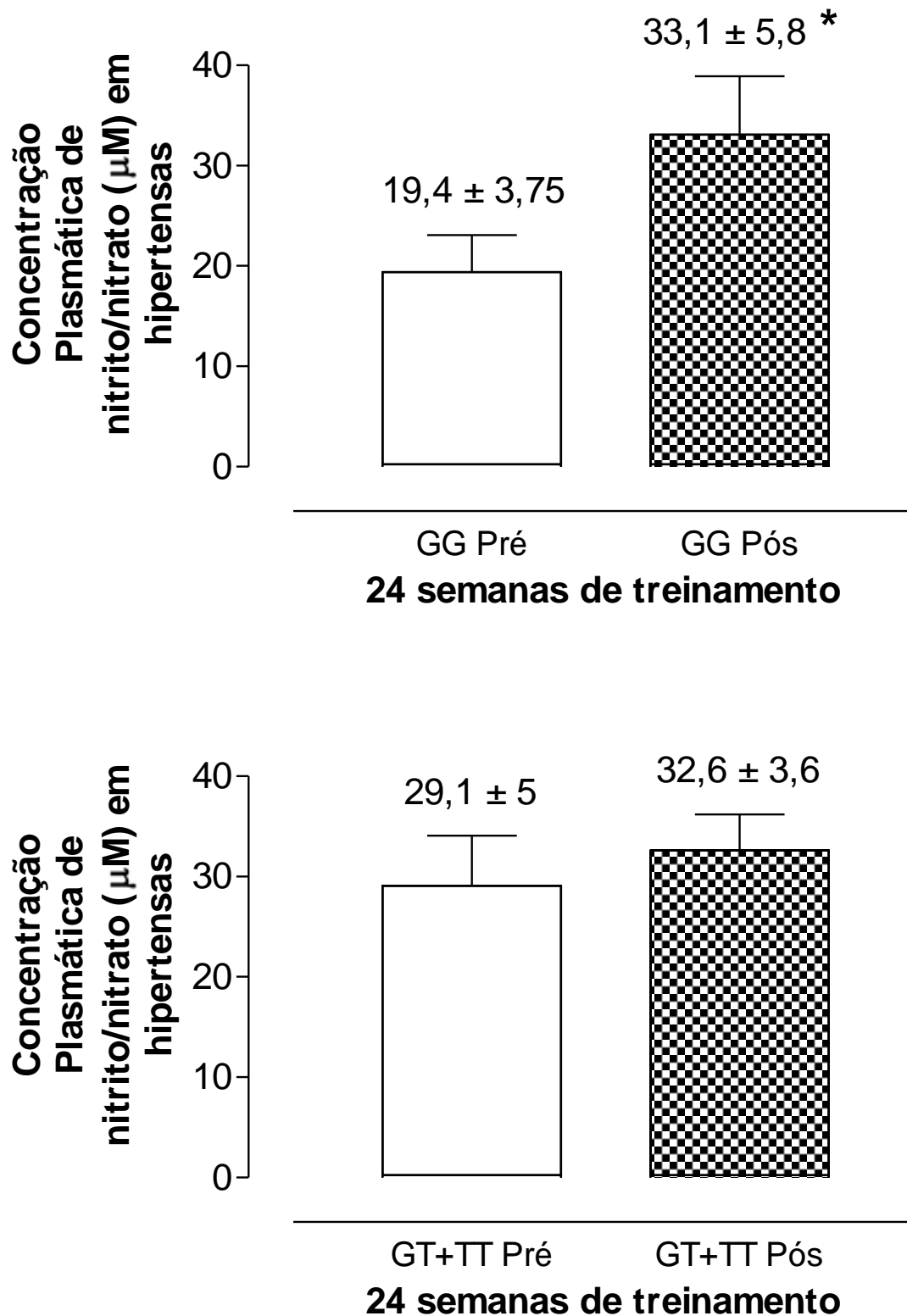


Figura 11. Concentração plasmática de nitrito/nitrato de voluntárias normotensas com o alelo GG e GT+TT antes e após um programa de treinamento físico aeróbio (24 semanas). Os valores representam as médias  $\pm$  SEM para 6 e 8 voluntárias respectivamente. \*  $P < 0,05$



**Figura 12.** Concentração plasmática de nitrito/nitrato de voluntárias hipertensas com o alelo GG e GT+TT antes e após um programa de treinamento físico aeróbio (24 semanas). Os valores representam as médias ± SEM para 13 e 19 voluntárias respectivamente. \*  $P < 0,05$

### Medicação Antihipertensiva

A combinação do tratamento medicamentoso associado ao não medicamentoso tem como objetivo a redução da pressão arterial sistólica e diastólica para níveis menores que 140 mmHg e 90 mmHg respectivamente.

A tabela 7 mostra os valores de pressão arterial sistólica e diastólica de voluntárias hipertensas sem medicação e com medicação antihipertensiva antes e após um programa de treinamento físico por 24 semanas. Podemos observar que o programa de treinamento físico empregado foi efetivo em reduzir os níveis pressóricos, de maneira significativa tanto para a pressão arterial sistólica quanto para a diastólica para ambos os grupos.

O programa de treinamento foi efetivo em aumentar a produção óxido nítrico, para ambos os grupos, sendo que as voluntárias hipertensas não medicadas apresentaram um aumento estatisticamente significativo de 60,2% nos valores de nitrito/nitrato. Por outro lado, os valores de nitrito/nitrato plasmático de voluntárias hipertensas medicadas aumentaram em 26,8%, contudo não atingiu significância estatística.

Já ao analisar o tempo de execução do teste de 1 milha, encontramos redução significativa apenas para as voluntárias hipertensas medicadas ( redução de 3,8 %).

**Tabela 7.** Valores de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, nitrito/nitrato e Tempo de Execução do Teste de 1 milha em minutos para o grupo hipertensa não medicadas e hipertensas medicadas nos momentos inicial (pré) e após 24 semanas de exercício aeróbio

	Não Medicadas (n=13)			Medicadas (n=19)		
	Pré	Pós	(%)	Pré	Pós	(%)
PAS (mmHg)	131,8 ± 1,9	123 ± 2,8 *	-6,7	127,9 ± 3	117,6 ± 4 *	- 8
PAD (mmHg)	83,4 ± 1,6	75,3 ± 2 *	-9,7	83,8 ± 1,2	74,6 ± 2,2*	-11
Nitrito/Nitrato (µM)	21,9 ± 3,8	35,1 ± 5,1 *	60,2	24,6 ± 4	31,2 ± 3,7	26,8
Tempo de execução do Teste de 1 milha em minutos	16,6 ± 0,5	16,3 ± 0,5	-1,8	15,6 ± 0,3	15 ± 0,5 *	-3,8

Dados estão expressos como média ± SEM. \* diferente estatisticamente dos valores obtidos no início do estudo. PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

A tabela 8 mostra o genótipo das voluntárias hipertensas não medicadas e medicadas, para os valores de pressão arterial sistólica e diastólica, óxido nítrico e tempo de execução do teste de 1 milha em minutos antes e após o programa de treinamento físico de 24 semanas. As voluntárias não medicadas e medicadas com o alelo GG apresentaram redução estatisticamente significativa na pressão arterial diastólica, com redução de 11,1% e 14,7% respectivamente. Contudo a pressão arterial sistólica não foi alterada significativamente, mesmo apresentando uma redução de 8% e 10,4% para as voluntárias não medicadas e medicadas respectivamente.

Para as voluntárias com o polimorfismo, foram encontradas alterações estatisticamente significativas para a pressão arterial sistólica das voluntárias não medicadas (redução de 5,8%) e medicadas (redução de 6,2%). O mesmo comportamento foi observado para a pressão arterial diastólica das voluntárias não medicadas (redução de 9%) e para as voluntárias medicadas (8,2%).

Apenas as voluntárias hipertensas medicadas com o genótipo GG e as voluntárias com o polimorfismo não medicadas e medicadas apresentaram aumento na produção de óxido nítrico, sendo o aumento de 2,5%, 25,3% e 48,3% respectivamente, mas esses aumentos não foram estatisticamente significativos. Apenas as voluntárias não medicadas com o genótipo GG apresentaram aumento significativo após as 24 semanas de treinamento (aumento de 118,9%).

No tempo de execução do teste de 1 milha, as voluntárias sem medicação com o genótipo GG apresentaram redução no seu tempo, sendo de 5,9%, mas não sendo estatisticamente significativa, e as voluntárias com genótipo GT+TT não modificaram os seus valores. Enquanto que as voluntárias medicadas, apenas as voluntárias sem polimorfismo apresentaram redução estatisticamente de 8,2%, após as 24 semanas de treinamento aeróbio.



**Tabela 8.** Valores de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, nitrito/nitrato e Tempo de Execução do Teste de 1 milha em minutos para o grupo hipertensa não medicadas e hipertensas medicadas nos momentos inicial (pré) e após 24 semanas de exercício aeróbio

	Não Medicadas (GG; n= 5)			Não Medicadas (GT+TT; n= 8)		
	Pré	Pós	(%)	Pré	Pós	(%)
PAS (mmHg)	130 ± 3,4	119,6 ± 4	-8	132,9 ± 2,3	125,1 ± 3,8 *	-5,8
PAD (mmHg)	81,9 ± 1,9	72,8 ± 3,2 *	-11,1	84,4 ± 2,4	76,8 ± 2,6 *	-9
Nitrito/Nitrato (µM)	21,1 ± 5,6	46,2 ± 11,2 *	118,9	22,5 ± 5,5	28,2 ± 3,1	25,3
Tempo de execução do Teste de 1 milha em minutos	17 ± 1,2	16 ± 1	-5,9	16,4 ± 0,6	16,4 ± 0,7	0

	Medicadas (GG; n= 8)			Medicadas (GT+TT; n= 11)		
	Pré	Pós	(%)	Pré	Pós	(%)
PAS (mmHg)	132,3 ± 5,5	118,5 ± 8	-10,4	124,7 ± 3,1	117 ± 3,9 *	-6,2
PAD (mmHg)	84,4 ± 4,4	72 ± 3,8 *	14,7	83,3 ± 1,8	76,5 ± 2,6 *	-8,2
Nitrito/Nitrato (µM)	24,3 ± 6,3	24,9 ± 3,1	2,5	23 ± 5,2	34,1 ± 5,5	48,3
Tempo de execução do Teste de 1 milha em minutos	14,6 ± 0,5	13,4 ± 0,4 *	-8,2	15,9 ± 0,4	15,5 ± 0,5	-2,5

Dados estão expressos como média ± SEM. \* diferente estatisticamente dos valores obtidos no início do estudo. Subgrupo GG, n=6; Subgrupo GT, n=6; Subgrupo GT+TT, n=9.

## SUMÁRIO DOS RESULTADOS

	PAS		PAD		NOX		Tempo de Execução Teste de 1 milha	
	NT	HT	NT	HT	NT	HT	NT	HT
GG	-5,9	-9,5 *	-8,5	- 13,3 *	95,5 *	70,6 *	-2	-6,4 *
GT+TT	-6,6	- 6,1 *	-10,2 *	- 8,6 *	45,2	12	-4,1 *	-0,6

%, de redução ou aumento

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos em nosso estudo mostram que o treinamento físico por 24 semanas foi efetivo para reduzir a pressão arterial diastólica e sistólica em mulheres no climatério. Mulheres com o genótipo GG foram mais responsivas ao exercício físico do que aquelas com genótipo GT e TT. A melhor responsividade da redução de pressão arterial foi positivamente correlacionada com a produção de NO em mulheres com genótipo GG.

Com relação aos parâmetros antropométricos, nossos dados mostram que nenhuma alteração ocorreu após um programa de 24 semanas de exercício físico. Estudo prévio mostra que somente ocorre perda de peso e redução de IMC quando existe uma associação entre restrição alimentar e exercício físico (DUNN, 2006). Dessa forma, a ausência de modificações no IMC das voluntárias, pode ser explicada pelo fato de que as participantes foram apenas instruídas sobre orientação alimentar, sem haver um controle rigoroso da ingestão alimentar e calórica das mesmas. No entanto, considerando que mulheres no climatério têm maior propensão a ganho de peso, a manutenção do peso corporal, durante seis meses, mostra a importância do exercício físico como modular do ganho de peso.

Estudos prévios mostram de maneira consistente que a utilização de exercícios aeróbios de intensidade baixa a moderada (40 -70 de  $VO_2$  máx) é mais eficaz para a promoção da redução da pressão arterial do que a utilização de intensidade acima de 75% do  $VO_2$  máx (extenuante) (OVERTON et. al., 1988; ARAKAWA, 1993; FORJAZ et al., 1998; WANG et al, 1999; HAGBERG et al, 2000; FAGARD, 2001; JONES et. al., 2009). Nossos resultados mostram que tanto as mulheres normotensas quanto hipertensas apresentaram redução significativa de pressão arterial mostrando que tanto a intensidade do exercício para essa faixa etária quanto a duração do exercício físico aeróbio mostraram-se eficientes na promoção da redução dos níveis pressóricos. Os mecanismos pelos quais ocorre redução da pressão arterial

em resposta ao exercício físico são múltiplos e complexos. Acredita-se que a liberação de substâncias vasodilatadoras pelas células endoteliais é um dos principais mecanismos da hipotensão pós exercício. De fato, o aumento do fluxo sanguíneo através do shear stress é um poderoso estímulo para a liberação do NO pelas células endoteliais (Zanesco e Antunes, 2007). Nosso trabalho mostra claramente que em voluntárias normotensas existe correlação positiva entre a redução de pressão arterial e elevação dos níveis plasmáticos de NOx. De fato, MAEDA et al. (2004) estudando mulheres idosas normotensas por 12 semanas, utilizando cicloergômetro, mostraram que houve redução tanto na pressão arterial sistólica quanto na diastólica que foi associado com elevação de NO. No entanto, para as voluntárias hipertensas esta correlação não se comprovou.

Com relação à capacidade aeróbia, observamos que o protocolo de treinamento físico não provocou qualquer alteração nos valores de  $VO_2$  máx em ambos os grupos. No entanto, é necessário enfatizar que as mulheres normotensas apresentaram maior consumo de oxigênio quando comparadas às voluntárias hipertensas. As razões para isso pode estar relacionadas ao tônus vascular que é mais elevado em estado hipertensivo ou ao uso de medicamentos anti-hipertensivos que podem afetar a capacidade aeróbia. Trabalhos prévios mostram que alguns tipos de medicamentos anti-hipertensivos como beta bloqueadores reduzem a capacidade aeróbia de pacientes em resposta ao exercício físico (Van Baak et al., 1991). Apesar da ausência de alteração nos valores de  $VO_2$  max, a melhora da capacidade aeróbia pode ser verificada pelo tempo final de execução do teste de 1 milha. Observamos que após as 24 semanas de treinamento físico redução significativa no tempo total de execução do teste nas voluntárias hipertensas. Podemos verificar também que as voluntárias hipertensas com uso de medicamentos apresentaram melhora no seu desempenho no tempo de execução do teste de 1 milha, o que não foi observado nas voluntárias hipertensas sem medicação, mostrando assim que a medicação não parece interferir na capacidade aeróbia dessas voluntárias. Entendemos

que o teste proposto não foi sensível para detectar pequenas modificações do  $VO_2$  nas voluntárias.

## **POLIMORFISMO**

Estudos populacionais avaliando a distribuição do polimorfismo para o gene da eNOS que promove a sua síntese na posição G894T mostraram que o genótipo GT é o par mais freqüente, seguido do par GG e por último o par TT (ROSSI et al., 2003; METZGER et al., 2007). Além disso, trabalhos prévios mostram positiva associação entre a presença de polimorfismo do gene da eNOS G894T com o desenvolvimento de espasmos coronarianos, infarto do miocárdio e hipertensão (SHIMASAKI, et al., 1998; MIYAMOTO et al., 1998; TSUJITA et al., 2001; PERIASWAMY et al., 2008). Nossos dados mostram similaridade aos estudos prévios para as voluntárias hipertensas, enquanto que para as voluntárias normotensas houve distribuição equitativa entre aquelas que apresentavam genótipo GG e GT. Assim, voluntárias hipertensas apresentam maior porcentagem de genótipo GT quando comparadas às normotensas, mostrando que a presença do polimorfismo pode influir na etiologia dessa patologia.

Com relação a redução de pressão arterial e o treinamento físico, nossos resultados mostraram resultados extremamente interessantes. As voluntárias normotensas com o genótipo GG apresentaram um aumento significativo para nitrito/nitrato (aumento de 95,5%), entretanto esse aumento não foi acompanhado de uma redução significativa para a pressão arterial sistólica (redução de 5,9%) e nem para a pressão arterial diastólica (redução de 8,5%). As voluntárias hipertensas sem o polimorfismo apresentaram reduções significativas de 9,5% para a pressão arterial sistólica, e de 13,3% para a pressão arterial diastólica, que foi

positivamente associada com elevação na produção de NO (aumento de 70,6%) após 24 semanas de treinamento físico.

As voluntárias normotensas com o polimorfismo, GT+TT, apresentaram redução significativa, 10,2%, na pressão arterial diastólica. Contudo essa redução não foi acompanhada por um aumento significativo na produção de NO. As voluntárias hipertensas com o polimorfismo apresentaram redução significativa tanto para a pressão arterial sistólica, 6,1%, quanto para a pressão arterial diastólica, 8,6%, mas que não foi acompanhado por um aumento significativo na produção de NO após 24 semanas de treinamento físico.

Um estudo demonstrou que o polimorfismo G894T aumenta a reatividade vascular para fenilefrina, sugerindo que a mutação pode afetar a responsividade vascular mediada pelos adrenoreceptores  $\alpha$  (PHILIP et al., 1999). Outro trabalho utilizou inibidores de óxido nítrico (L-NMMA) mostrando que os voluntários que possuem o polimorfismo já possui maiores níveis de pressão arterial em condição de repouso e que os aumentos de pressão arterial foram maiores após a administração do inibidor da síntese de NO no grupo com a presença do polimorfismo (DIAS, 2009). Além disso, trabalho recente mostra que seus voluntários GT e TT apresentam maiores valores de pressão arterial sistólica na condição de repouso (KIM et. al., 2007).

Erbs e colaboradores (2006) avaliaram os efeitos do polimorfismo do G894T do gene da eNOS na função e a resposta endotelial a um protocolo de treinamento físico aeróbio por 4 semanas, 67 pacientes idosos com doença arterial coronariana. Após o treinamento, os pacientes com doença arterial coronariana apresentaram melhora na função endotelial tanto para os pacientes sem o polimorfismo quanto para os pacientes com o polimorfismo G894T do gene da eNOS, mostrando os benefícios do exercício físico aeróbio. Assim, nosso trabalho mostra claramente que a presença do polimorfismo para o gene da eNOS G894T em voluntárias hipertensas no climatério afeta consideravelmente a resposta hipotensora ao

exercício físico. Enquanto que as voluntárias normotensas com o polimorfismo obtiveram uma respostas hipotensora pós exercício de maneira semelhante as voluntárias normotensas sem o polimorfismo para o gene da eNOS G894T.

## CONCLUSÕES

Em mulheres normotensas o polimorfismo do gene parece não ter influencia sobre a resposta hipotensora mediada pelo exercício físico.

Por outro lado, em hipertensas pode-se verificar a influencia do polimorfismo do gene da eNOS G894T na resposta hipotensora pós exercício físico, que é atenuada no grupo que apresenta o gene GT+TT.



## REFERÊNCIAS

AHLQUIST, R.P. A study of adrenergic receptors. **Am J Physiol**, 153: 586-600, 1948.

ALVAREZ, G. E.; BESKE, S. D.; BALLARD, T.P.; DAVY, K.P. Neural Activation in Visceral Obesity. **Circulation**, v. 106, n. 20, p.: 2533-2536, 2002.

AMERICAN COLLEGE of SPORTS MEDICINE (ACSM) **Manual do ACSM para teste de esforço e prescrição de exercício**. Tradução: Paula Chermont P. Estima. 5. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000.

ARAKAWA, K. Antihypertensive mechanism of exercise. **J Hypertens**, 11: 223-229, 1993.

BEHRENDT, D, Ganz P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. **Am J Cardiol**, 90(10C):40L-48L., 2002; Review.

BERNE, R.M.; LEVY, M. N. **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

BRANDÃO RONDON, M. U.; ALVES, M. J.; BRAGA, A. M.; TEIXEIRA, O. T.; BARRETTO, A. C.; KRIEGER, E. M. et al. Postexercise blood pressure reduction in elderly hypertensive patients. **JACC**, v.39, n. 4, p.: 676-682, 2002.

BROWN, M. J.; PALMER, C. R.; CASTAIGNE, A.; DE LEEUW, P. W.; MANCIA, G.; ROSENTHAL, T.; RUILOPE, L. M. Morbidity and mortality in patients randomized to double-blind treatment with long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study: Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT). **Lancet**, v.356, n.927, p.:366-72, 2000.

BYRNE, H.K.; WILMORE, J.H. The effects of resistance training on resting blood pressure in women. **J Strength Cond Res.**, 14, 411-418, 2000.

CADE, de R.; MARS, D.; WAGEMAKER, H.; ZAUNER, C.; PACKER, D.; PRIVETTE, M.; et al. Effect of aerobic exercise training on patients with systemic arterial hypertension. **Am J Med.**, v.77, n.5, p.:785-90, 1984.

CARDOSO JUNIOR, C. G.; FORJAZ, C. L. M.; ONEDA, B.; MORIYAMA, C. K.; TINUCCI, T.; FONSECA, A. M et al. Climatério, hipertensão arterial e qualidade de

vida: efeitos do treinamento aeróbico e da terapia hormonal. **Hipertensão arterial**, v.10, n.4, p.144-151, 2007.

CAREY, R. M.; WANG, Z.Q.; SIRAGY, H. M. Novel actions of angiotensin II via its renal type-2 (AT(2)) receptor. **Curr. Hypertens. Rep.**, v.1, n.2, p. 151-157, 1999.

CAYATTE, A. J.; PALACINO, J. J.; HORTEN, K.; COHEN, R. A.. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. **Arterioscler Thromb**, v.14, n.5, p.:753-759, 1994

CRAIG, D. H.; CHAPMAN, S. K.; DAFF, S. Calmodulin activates electron transfer through neuronal nitric oxide synthase reductase domain by releasing a NADPH-dependent conformational lock. **J. Biol. Chem.**, v.277, n. 37, p. 33987-33994, 2002.

COGGAN, A. R.; SPINA, R. J.; KING, D. S.; ROGERS, M. A.; BROWN, M.; NEMETH, P. M. et al. Skeletal muscle adaptations to endurance training in 60-70 years old men and women. **J. Appl. Physiol.**, Missouri, v.72, n.5, p.1780-1786, 1992.

COYLEWRIGHT, M.; RECKELHOFF, J. F.; OUYANG, P. Menopause and Hypertension An Age-Old Debate. **Hypertension**, v.51, n.4, p.952-959, 2008.

DAHLOF, B. DEVEREUX, R. B.; KJELDSSEN, S. E.; JULIUS, S.; BEEVERS, G.; DE FAIRE, U. et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the losartan intervention or endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. **Lancet**, v.359, n. 9311, p. 995–1003, 2002.

DIAS, R. G.; ALVES, M. J.; PEREIRA, A. C.; RONDON, M. U.; DOS SANTOS, M. R.; KRIEGER, J. E. et al. Glu298Asp eNOS gene polymorphism causes attenuation in Non-exercising muscle vasodilatation. **Physiol Genomics**, v.37, n.2, 2009

DÓREA, E. L.; LOTUFO, P. A. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica. **Hipertensão**. v.7, p. 86-9, 2004.

DUBEY, R. K.; OPARIL, S.; IMTHURN, B.; JACKSON, E. K.. Sex hormones and hypertension. **Cardiovascular Research**, v.53, n.3, p.688-708, 2002.

DUNN, C .L.; HANNAN, P. J.; JEFFERY, R. W.; SHERWOOD, N.E.; PRONK, N. P.; BOYLE, R. The comparative and cumulative effects of a dietary restriction and exercise on weight loss. **Int. J. Obes.**, London, v.30, n.1, p. 112-121, 2006.

EGLIN, R. M.; HEGDE, S. S.; WATSON, N. Muscarinic receptor and smooth muscle function. **Pharmacol Rev**, v.48, n.4, p. 532-556, 1996.

ERBS, S.; MOBIUS-WINKLER, S.; LINKE, A.; ADAMS, V.; DOLL, N.; GIELEN, S. et al. Both T-786C and G894T polymorphism of endothelial nitric oxide synthase affect in-vitro endothelium-dependent relaxation of internal mammary artery rings from patients with coronary artery disease. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.**, v.13, n.5, p.826-31, 2006.

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**; v.23, n.10, p.1814-1819, 2003.

FAGARD, R.H. et al. A. Influence of antihypertensive drugs on exercise capacity. **Drugs**. v.46, suppl. 2, p. 32-36, 1993.

FAGARD, R. H. Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. **Med Sci Sports Exerc**, v.33, S484-494, 2001.

FAULKNER, J. A.; WHITE, T. P. Adaptations of skeletal muscle to physical activity. In BOUCHARD, C. et al. (Ed). **Exercise, fitness and health: a consensus of current knowledge**. Champaign: Human Kinetics, p. 265-279, 1990.

FERNANDES, C. Climatério Feminino: Fisiopatologia, Diagnóstico e Tratamento. São Paulo: Novartis, 1994

FLAVAHAN, N. A.; VANHOUTTE, P. M. Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction. **Am. J. Hypertens.**, Baltimore, v.8, n.5, p.28-41, 1995.

FLEC, S. J. J. Cardiovascular adaptations to resistance training. **Med Sci Sports Exerc**, 20; S146-151, 1988.

FORJAZ, C. L. M.; SANTAELLA, D. F.; REZENDE, L. O.; BARRETO, A. C. P.; NEGRÃO, C. E. A duração do exercício determina a magnitude e a duração da hipotensão pós-exercício. **Arq Bras Cardiol**; v.70, n.2, p. 99-104, 1998.

FORSTERMANN, U.; POLLOCK, J. S.; SCHMIDT, H. H.; HELLER, M.; MURAD, F. Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase

activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.88, n.5, p. 1788-1792, 1991.

FREITAS, E. V., PY, L.; NERI, A. L.; CANÇADO, F. A. X.; GORZONI, M. L. e ROCHA, S. M. Tratado de Geriatria e Gerontologia. Guanabara Koogan, 2002.

FREUND, B.J.; WADE, C. E.; CLAYBAUGH, J.R. Effect of exercise on atria natriuretic factor: release mechanisms and implications for fluid homeostasis. **Sport Med.**, Honolulu, v.6, n.6, p.346-364, 1988.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v.288, p.373-376, 1980.

GUYTON, A. C.; HALL, J .E. Textbook of medical physiology. 11<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Elsevier, 2006.

GALLO, J. J.; BUSBY-WHITEHEAD, J.; RABINS, P. V.; SILLIMAN, R. A.; MURPHY, J. B. Reichel Assistência ao Idoso Aspectos Clínicos do Envelhecimento. Guanabara Koogan, 5<sup>a</sup> edição. 2001.

GIANNUZZI, P.; MEZZANI, A.; SANER, H.; BJORNSTAD, H.; FIORETTI, P.; MENDES, M. et al. Physical activity for primary and secondary prevention. Position paper of the working group on cardiac rehabilitation and exercise physiology of the European Society of Cardiology. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v.10, n.5, p.319-327, 2003.

GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; CALHOUN, D. A.; MANCIA, G. Physical training and baroreceptor control of sympathetic nerve activity in humans. **Hypertension**, v.23, n.3, p.294-301, 1994.

GREEN, D.; CHEETHAM, C.; HENDERSON, C.; WEERASOORIYA, R.; O'DRISCOLL, G. Effect of cardiac pacing on forearm vascular function. **AM J Physiol**, v.283, n.4, H1354-H1360., 2002a.

GREEN, D. J.; MAIORANA, A.; O'DRISCOLL, G.; TAYLOR, R. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. **The Journal of Physiology**, v.561, Pt1, 1-25, 2004.

HAGBERG, J. M.; PARK, J. J.; BROWN, M. D. The role of exercise training in the treatment of hypertension: na update. **Sports Med.**, Honolulu, v.30, n.3, p. 193-206, 2000.

HANSSON, L.; ZANCHETTI, A.; CARRUTHERS, S. G.; DAHLOF, B.; ELMFELDT, D.; JULIUS, S. et al. Effects of intensive blood-pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomized trial. **Lancet**, v.351, n. 9118, p.1755–62, 1998.

HANSSON, L.; LINDHOLM, L. H.; EKBOM, T.; DAHLOF, B.; LANKE, J.; SCHERSTÉN, B. et al. Randomized trial of old and new antihypertensive drugs in elderly patients: cardiovascular mortality and morbidity. The Swedish Trial in Old Patients with Hypertension-2 study. **Lancet**, v.354, n.9192, p. 1751-1756, 1999.

HANSSON, L. HEDNER, T.; LUND-JOHANSEN, P.; KJELDSSEN, S. E.; LINDHOLM, L. H.; SYVERTSEN, J. O. et al. Randomized trial of effects of calcium antagonists compared with diuretics and alpha-blockers on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Nordic Diltiazem (NORDIL) study. **Lancet**, v.356, n. 9227, p.359–65, 2000.

HARA, K.; FLORA, J. S. Influence of naloxone on muscle sympathetic nerve activity, systemci and calf haemodynamics and ambulatory blood pressure after exercise in mild essential hypertension. **J Hypertens**, v.13, n.4, p. 447-461, 1995.

HARRISON-BERNARD, L. M.; SCHULMAN, I. H.; RAIJ, L. Postovariectomy Hypertension Is Linked to Increased Renal AT1 Receptor and Salt Sensitivity. **Hypertension**,v.42, p.1157-1163, 2003.

HARTLEY, L. H., MASON, J. W.; HOGAN, R. P.; JONES, L. G.; KOTCHEN, T. A.; MOUGEY, E. H. et al. Multiple hormonal responses to prolonged exercise in relation to physical training. **J. Appl. Physiol.**, Boston, v.33, n.5, p.607-610, 1972.

HEITZER, T; SCHLINZIG, T; KROHN, K; MEINERTZ, T; MUNZEL, T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. **Circulation**, 27;104(22):2673-8, 2001.

HIGASHI, Y.; OSHIMA, T.; WATANABE, M.; MATSUURA, H.; KAJIYAMA, G. Renal Response to L-Arginine in Salt-Sensitive Patients With Essential Hypertension. **Hypertension**, v.27, p.643-648, 1996.

HIGASHI Y; YOSHIKUMI M. Exercise and endothelial function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. **Pharmacol Ther**, v. 102, n. 1, p. 87- 96, 2004.

HINGORANI, A. D.; LIANG, C. F.; FATIBENE, J.; LYON, A.; MONTEI, S.; PARSONS, A. et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. **Circulation**, v.100, n.14, p.1515-20, 1999.

HOWLEY, E. T. Type of activity: resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. **Med Sci Sports Exerc**, v.33, p.S364-S369, 2001.

KANNEL, W. B. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. **JAMA**. v. 273, p. 1571-1576, 1996.

KARVONEN, M. J.; KENTALA, E.; MUSTALA. The effects of training on heart rate. A longitudinal study. **Ann Med. Exe. Biol. Fenn.** v.35, p. 305, 1957.

KENNEY, M. J.; SEALS, D. R.. Postexercise hypotension. **Hypertension**, v.22, n.5, p.653-664, 1993.

KIM, J. S.; CHO, J. R.; PARK, S.; SHIM, J.; KIM, J. B.; CHO, D. K. et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism is associated with hypertensive response to exercise in well-controlled hypertensive patients. **Yonsei Med J.**, v.48, n.3, p.389-95, 2007.

KOJDA G; HAMBRECHT R. Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy? **Cardiovasc Res**, v. 1, n. 67 (2), p. 187- 197, 2005.

KRIEGER, E. M. Neurogenic Hypertension in the rat. **Circ. Res**, 15: 511-521, 1964.

KRIEGER, E. M.; BRUM, P. C.; NEGRAO, C. E.. Role of arterial baroreceptor function on cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. **Biol. Res.**, São Paulo, v.31, n.3, p.273-279, 1998.

KRUMHOLZ, H. M.; PARENT, E. M.; TU, N.; VACCARINO, V.; WANG, Y.; RADFORD, M. J.; et al. Readmission after hospitalization for congestive heart failure among Medicare beneficiaries. **Arch Intern Med**, v.157, n1, p.99-104, 1997.

JONES, H.; TAYLOR, C. E.; LEWIS, N. C.; GEORGE, K.; ATKINSON, G. Post-exercise blood pressure reduction is greater following intermittent than continuous exercise and is influenced less by diurnal variation. **Chronobiol Int.**, v.26, n.2, p. 293-306, 2009.

JUNQUEIRA, L. C. e CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LANDMESSER, U.; HORNING, B.; DREXLER, H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? **Circulation**, v.109, n.21 Suppl 1, p. II27–II33, 2004.

LANDMESSER, U.; DREXLER, H. Endothelial function and hypertension. **Curr opin Cardiol**, v. 22, n.4, p.316-320, 2007.

LEBLANC, J.; BOULAY, M.; DULAC, S.; JOBIN, M.; LABRIE, A; ROUSSEAU-MIGNERON, S. Metabolic and cardiovascular responses to norepinephrine in trained and nontrained human subjects. **J. Appl. Physiol.**, Quebec, v.42, n.2, p.166-73, 1977.

LI, R.; LYN, D.; LAPU-BULA, R.; ODUWOLE, A.; IGHO-PEMU, P.; LANKFORD, B. et al. Relation of endothelial nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide level, endothelial function, and blood pressure in African Americans. **Am J of Hypertens**, v.17, n7, p.560-567, 2004.

LINDHOLM, L. H.; IBSEN, H.; DAHLOF, B.; DEVEREUX, R. B.; BEEVERS, G.; DE FAIRE, U. et al. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with diabetes in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. **Lancet**, v.359, n. 9311, p.1004–10, 2002.

LODISH, H. et al. **Biologia Celular e Molecular**. 5. ed. Porto Alegre, Artmed, 2005

MAEDA, S.; MIYAUCHI, T.; KAKIYAMA, T.; SUGAWARA, J.; IEMITSU, M.; IRUKAYAMA-TOMOBE, Y. et al. Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium – derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. **Life Sci**, v.69, n.9, p.1005-1016, 2001.

MAEDA, S.; TANABE, T.; OTSUKI, T.; SUGAWARA, J.; IEMITSU, M.; MIYAUCHI, T. et al. Moderate regular exercise increases basal production of nitric oxide in elderly women. **Hypertens Res.**, v.27, n.12, p.947-53, 2004.

MARRONI, A.S. Consistent interethnic differences in the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide synthase genetic polymorphism. **Nitric Oxide**, 12(3), 177-82, 2005.

McARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. **Fundamentos da fisiologia do exercício**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002.

McCRIMMON, D. R., GUNNINGHAM, D. A.; RECHNITZER, P. A.; GRIFFITHS, J. Effect of training on plasma catecholamines in post myocardial infarction patients. **Med. Sci. Sports**, Illinois, v.8, n.3, p.152-156, 1976.

MEDIANO, M. F. F.; PARAVIDINO, V.; SIMAO, R.; PONTES, F. L.; POLITO, M. D. Comportamento subagudo da pressão arterial após o treinamento de força em hipertensos controlados. *Rev Bras Med Esporte*, n.6, v.11, p. 337-340, 2006.

MELIN, B.; ECLACHE, J. P.; GEELEN, G.; ANNAT, G.; ALLEVARD, A. M.; JARSAILLON, E. et al. Plasma AVP, neurophysin, renin activity, and aldosterone during submaximal exercise performed until exhaustion in trained and untrained men. **Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.**, Grange Blanche, v.44, n.2, p.141-151, 1980.

METZGER, I. F.; SERTÓRIO, J. T.; TANUS-SANTOS, J. E. Modulation of nitric oxide formation by endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes. **Free Radic Biol Med.**, v.43, n.6, p.987-92, 2007.

MIYAMOTO, Y.; SAITO, Y.; KAJIYAMA, N.; YOSHIMURA, M.; SHIMASAKI, Y.; NAKAYAMA, M. et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. **Hypertens**, v.32, n.1, p.3-8, 1998.

MOHRMAN, D. E.; HELLER, L. J. **Lange Physiology Series – Cardiovascular Physiology**. McGraw-Hills, 6<sup>a</sup> ed., 2006.

MONCADA, S.; PALMER, R. M. Biosynthesis and actions of nitric oxide. **Semin. Perinatol**, Beckenham, v.15, n.1, p.16-19, 1991.

MORROW, J.R., et al. **Medidas e Avaliação do Desempenho Humano**. 2. ed. Tradução de: Maria da Graça Figueiró da Silva. Porto Alegre: ARTMED, 2003. 303p.

Medical Research Council Working Party. MRC trial of treatment of hypertension: principal results. **BMJ**; v.291, p.97–104, 1985.



MEHTA, J. L. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease *J Am Coll Cardiol* 1998; v.31, n6, p.1217-25

MEREDITH, C. N.; FRONTERA, W. R.; FISHER, E. C.; HUGHES, V. A.; HERLAND, J. C.; EDWARDS, J. et al. Peripheral effects of endurance training in Young and old subjects. *Journal of Applied Physiology*. v. 66, n. 6, p. 2844-2849, 1989.

NARUSE, K.; SHIMIZU, K.; MURAMATSU, M.; TOKI, Y. MIYAZAKI, Y.; OKUMURA, K. et al. Long-term inhibition of NO synthesis promotes atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. PGH2 does not contribute to impaired endothelium-dependent relaxation. *Arterioscler Thromb*; v.14, n.5, p.746-752, 1994.

NEAL, B.; MACMAHON, S.; CHAPMAN, N. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. *Lancet*, v.356, n.9246, p.1955-1964, 2000.

NELSON, M. E.; REJESKI, W. J.; BLAIR, S. N.; DUNCAN, P. W.; JUDGE, J. O.; KING, A. C. et. al. Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc*, v.39, n.8, p.1435-1445, 2007.

OHTA, M.; NANRI, H.; MATSUSHIMA, Y.; SATO, Y.; IKEDA, M. Blood pressure-lowering effects of lifestyle modification: possible involvement of nitric oxide bioavailability. *Hypertension Res.*, Kitakyushu, v.28, n.10, p. 779-786, 2005.

OVERTON, J. M.; JOYNER, M. J.; TIPTON, C. M. Reduction in blood pressure after acute exercise by hypertensive rats. *J Appl Physio*, v.64, n.2, o.748-52, 1988.

PADWAL, R.; STRAUS, S. E.; McALISTER, F. A. Evidence based management of hypertension. Cardiovascular risk factors and their impact on decision to treat hypertension: an evidence – based review. *BMJ*. v.322, n. 7292, p. 977-980, 2001.

PALMER, R. M. J.; FERRIGE, A. G.; MONCADA, S. Nitric ocide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature*, v.327, n.6122, p.524-526, 1987.

PERIASWAMY, R.; GURUSAMY, U.; SHEWADE, D. G.; CHERIAN, A.; SWAMINATHAN, R. P.; DUTTA, T. K. Gender specific association of endothelial

nitric oxide synthase gene (Glu298Asp) polymorphism with essential hypertension in a south Indian population. **Clinica chimica acta**. v.395, n.1-2, p.134-136, 2008.

PETERSON, J. C.; ADLER, S.; BURKART, J. M.; GREENE, T.; HEBERT, L. A.; HUNSICKER, L. G. et al. Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The modification of Diet in Renal Disease Study (MDRD) **Ann Intern Med**, v.123, n.10, p.754–62, 1995.

PHILIP, I.; PLANTEFEVE, G.; VUILLAUMIER-BARROT, S.; VICAUT, E.; LeMARIE, C.;HENRION, D. et al. G894T polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with an enhanced vascular responsiveness to phenylephrine. **Circulation**, v.99, n.24, p.3096-3098, 1999.

PRIVIERO, F. B. M.; De NUCCI, G.; ANTUNES, E.; ZANESCO, A. Chronotropic response to adenosine receptor agonists in rat right atria after run training. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v.31, n.10, p.741-743, 2004.

PROGRESS Collaborative Group. Randomized Trial of a perindopril-based-blood pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. **Lancet**, 35:1033–41, 2001.

PSATY, B. M.; SMITH, N. L.; SISCOVICK, D. S.; KOEPESELL, T. T.; WEISS, N. S.; HECKBERT, S. R. et al. Health outcomes associated with antihypertensive therapies used as firstline agents. A systematic review and meta-analysis. **JAMA**, v.277, n.9, p.739–45, 1997.

ROGERS, M. A.; HAGBERG, J. M.; MARTIN, W. H; EHSANI, A. A.; HOLLOSZY, J. O. et al. Decline in  $VO_{2max}$  with aging in máster athletes and sedentary men. **Journal of Applied Physiology**. v.68, n.5, p. 2195-2199, 1990.

ROSSI, G. P.; TADDEI, S.; VIRDIS, A.; CAVALLIN, 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**, v. 41, n 6, p. 938-945, 2003.

ROSS, M. H. e PAWLINA, W. Histologia texto e atlas em correlação com biologia celular e molecular. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SAIKI R. K.; SCHARF, S.; FALLONA, F.; MULLIS, K. B.; HORN, G. T.; ERLICH, H. A. et al. Enzymatic amplification of  $\beta$ -globin genomic sequences and restriction site

analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**; v.230, n. 4732, p.1350-1354, 1985.

SCHULMAN, I. H.; RAIJ, L. Salt Sensitivity and Hypertension after Menopause: Role of Nitric Oxide and Angiotensin II. **Am J Nephrol**; v.26, p.170–180, 2006.

SESSA, W. C. The nitric oxide synthase family of proteins. **J Vasc Res**, v.31, n.3, p.131-43, 1994.

SHEP-Cooperative Research Group. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension: final results of the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). **JAMA**; v.265, p.3255–64, 1991.

SHEN, Y. T.; YOUNG, M. A.; OHANIAN, J.; GRAHAM, R. M.; VATNER, S. F. Atrial natriuretic factor-induced systemic vasoconstriction in conscious dogs, rats, and monkeys. **Circ. Res.**, Boston, v.66, n.3, p.647-61, 1990.

SHEN, W.; ZHANG, X.; ZHAO, G.; WOLIN, M. S.; SESSA, W.; HINTZE, T. H. Nitric oxide production and NO synthase gene expression contribute to vascular regulation during exercise. **Med Sci Sports Exerc.**, v.27, n.8, p.1125-34, 1995

SHIMASAKI, Y.; YASUE, H.; YOSHIMURA, M.; NAKAYAMA, M.; KUGIYAMA, K.; OGAWA, H. et al. Association of the Missense GLU298Asp variant of the endothelial Nitric Oxide Synthase gene with myocardial infarction, **J Am Coll Cardiol**, v.31, n. 7, p- 1506-1510, 1998.

SILVA, R.B. **Atividade física e aptidão física em mulheres na pós-menopausa**. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 99p., 2004.

SIMKIN-SILVERMAN, L.; WING, R. R.; HANSEN, D. R.; KLEM, M. L.; PASAGIAN-MACAULAY, A. P.; MEILAHN, E. N. et al. Prevention of cardiovascular risk factor elevations in healthy premenopausal women. **Prev Med**, v.24, n. 5, p.509-517, 1995.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **V Diretriz Brasileira de hipertensão Arterial**. São Paul, 2006

SPOTO, B.; BENEDETTO, F. A.; TESTA, A.; TRIPEPI, G.; MALLAMACI, F.; MAAS, R. et al. An additive effect of endothelial nitric oxide synthase gene

polymorphisms contributes to the severity of atherosclerosis in patients on dialysis. *American Journal of Hypertension: J Am Soc Hypertens*, v.20, n.7, p.758-763, 2007.

STASSEN, J. A.; FAGARD, R.; THIJIS, L.; CELIS, H.; ARABIDZE, G. G.; BIRKENHAGER, W. H. et al. Randomized double-blind comparison of placebo and active treatment for older patients with isolated systolic hypertension. The Systolic hypertension in Europe (SYST-EUR). *Lancet*, v.350, n. 9080, p.757-64, 1997.

STELLA, F.; GOBBI, S.; CORAZZA, D. I.; COSTA, J. L. R. Depressão no idoso: diagnóstico, tratamento e benefícios da atividade física. *Revista Motriz*, Rio Claro, v.8, n.3, p.7-13, 2002.

SULLIVAN, J.C.; SASSER, J.M.; POLLOCK, J. S. Sexual dimorphism in oxidant status in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R764-R768, 2007.

SYKOWSKY, P. A.; D'AGOSTINHO, R. B.; BELANGER, A. J.; KANNEL, W. B. Secular trends in Long term Sustained Hypertension, Long Term Treatment and Cardiovascular Morbidity. The Framingham heart Study 1950 to 1990. *Circulation*. v. 93, n.4, p. 697-703, 1996.

TIPTON, C. M.; MATTHES, R. D.; BEDFORD, T. G. et al. Influence of training on the blood pressure changes during lower body negative pressure in rats. *Med Sci Sports Exerc*, v.14, n.1, p.81-90, 1982.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. Princípios de anatomia e fisiologia. 9ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

TSUJITA, Y.; BABA, S.; YAMAUCHI, R.; MANNAMI, T.; KINOSHITA, M.; YAMAMOTO, R. et al. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: the suita study. *J Hypertens.*, v.19, n.11, p.1941-1948, 2001.

UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and the risk of macrovascular and microvascular complications in type diabetes. UKPDS 38. *BMJ*, 317:703-13, 1998.

UK Prospective Diabetes Study Group. Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes. UKPDS 39. *BMJ*, 317:713-20, 1998.

WASSERTHEIL-SMOLLER, S.; ANDERSON, G.; PSATY, B. M.; BLACK, H. R.; MANSON, J.; WONG, N. et al. Hypertension and Its Treatment in Postmenopausal Women Baseline Data from the Women's Health Initiative. **Hypertension**, v.36, n.5, p.780-789, 2000.

World Health Organization – International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension **J Hypertens**;17:151–83, 1999.

WRIGHT, J. M.; LEE, C. H.; CHAMBERS, G. K. Systematic review of antihypertensive therapies: does the evidence assist in choosing a first-line drug. **CMAJ**, v.161, n.1, p.25–32, 1999.

VAN BAAK, M.A. KOENE, F. M.; VERSTAPPEN, F. T.; TAN, E. S. Exercise performance during captopril and atenolol treatment in hypertensive patients. **Br J Clin Pharmacol**, v.32, n.6, p. 723-728, 1991.

ZANESCO A.; ANTUNES E. Células endoteliais. In: Carvalho HF, Buzato CBC. Células: uma abordagem multidisciplinar. 1. ed. Barueri: Manole. 2005.