

## Efecto del Ejercicio Físico y del Polimorfismo T-786C en la Presión Arterial y en el Flujo Sanguíneo de Añosas

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

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

### Resumen

**Fundamento:** El polimorfismo T-786C del gen de la sintetasa del óxido nítrico endotelial (eNOS) y la producción de anión superóxido pueden disminuir la producción y biodisponibilidad del óxido nítrico, comprometiendo el grado de vasodilatación, pudiendo este efecto ser revertido por el ejercicio físico.

**Objetivo:** Investigar la influencia del entrenamiento aeróbico y del polimorfismo T-786C en las concentraciones de los metabolitos del óxido nítrico (NOx), en el flujo sanguíneo (FS) y en la presión arterial (PA).

**Métodos:** Treinta y dos añosas prehipertensas ( $59 \pm 6$  años) fueron separadas en dos grupos de acuerdo con el polimorfismo T-786C (TT y TC+CC). Fueron analizadas las concentraciones de NOx (plasma) y flujo sanguíneo por pletismografía de oclusión venosa en reposo, 1, 2 y 3 minutos post oclusión (FS-0, FS-1, FS-2, FS-3, respectivamente). Las evaluaciones fueron realizadas antes y después de 6 meses de un programa de ejercicio aeróbico.

**Resultados:** En las evaluaciones pre entrenamiento, los niveles de NOx fueron menores en el grupo TC+CC en relación al grupo TT. El grupo TT presentó correlaciones entre NOx y FS-0 ( $r = 0,6$ ) y presión arterial diastólica (PAD) y FS-0 ( $r = -0,7$ ), sin embargo ninguna correlación fue encontrada en el grupo TC+CC. En las evaluaciones post entrenamiento, ocurrieron correlaciones entre NOx y FS-0 ( $r = 0,6$ ) y en los cambios del NOx y PAD ( $r = -0,6$ ) en el grupo TT. También fueron obtenidas correlaciones entre PAD y FS-1 ( $r = -0,8$ ), PAD y FS-2 ( $r = -0,6$ ), PAD y FS-3 ( $r = -0,6$ ), en los cambios entre NOx y FS-1 ( $r = 0,8$ ) y cambios del NOx y PAD ( $r = -0,7$ ) en el grupo TC+CC.

**Conclusión:** Se concluye que 6 meses de ejercicio aeróbico pueden contribuir a aumentar las relaciones existentes entre NO, PA y FS en añosas portadoras del alelo C. (Arq Bras Cardiol 2010; 95(4): 510-517)

**Palabras clave:** Óxido nítrico, superóxido dismutasa, ejercicio, presión arterial, año, polimorfismo genético.

### Introducción

El óxido nítrico (NO) producido por la sintetasa del óxido nítrico endotelial (eNOS) posee una importante función en el control cardiovascular, especialmente para la vasodilatación<sup>1,2</sup>. Cuando la eNOS es activada, el metabolismo de la L-arginina es aumentado generando la formación de L-citrulina y de NO por las células endoteliales<sup>3-5</sup>. Una vez producido, el NO migra hacia la célula muscular lisa vascular generando un aumento de la actividad de la guanilato ciclasa, culminando en la disminución de calcio y en el relajamiento de la musculatura lisa vascular<sup>5,6</sup>.

En el vaso sanguíneo, entre los mecanismos envueltos en la manutención de las concentraciones adecuadas de NO, se pueden destacar la actividad de la eNOS y la biodisponibilidad de NO<sup>7-12</sup>.

La actividad de la eNOS puede ser genéticamente determinada y algunos polimorfismos han sido identificados como potenciales candidatos para el desarrollo de hipertensión arterial<sup>9</sup>. Por ejemplo, el alelo C del polimorfismo T-786C de la región promotora del gen de la eNOS ha sido capaz de disminuir la actividad promotora y transcripcional de ese gen, reduciendo la producción de NO<sup>7,13</sup>.

La biodisponibilidad de NO está estrechamente relacionada con la producción de anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) producido por el endotelio, capa adventicia y célula muscular lisa vascular<sup>1,14-18</sup>. Tanto factores físicos como humorales, como por ejemplo el shear stress, pueden modular la actividad de la NAD(P)H oxidasa e inducir la producción de O<sub>2</sub><sup>-</sup><sup>12,19</sup>. El aumento de O<sub>2</sub><sup>-</sup> en el sistema cardiovascular puede generar una disfunción endotelial y un aumento de la contractibilidad vascular<sup>2,12</sup>. Cuando es producido en exceso, los O<sub>2</sub><sup>-</sup> reaccionan con el NO produciendo peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), disminuyendo la biodisponibilidad del NO<sup>2</sup>.

Contraponiéndose a los efectos de ambos mecanismos (polimorfismos del gen de la eNOS y de la producción de O<sub>2</sub><sup>-</sup>), el ejercicio aeróbico ha sido señalado como uno de

**Correspondencia:** Anderson Saranz Zago •

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

E-mail: aszago@usp.br

Artículo recibido en 18/05/09; revisado recibido en 26/01/10; aceptado en 12/04/10.

los principales estímulos para combatir tales disfunciones endoteliales<sup>2,19,20</sup>. El shear stress inducido por el aumento del flujo sanguíneo, especialmente durante la realización de ejercicios físicos, puede beneficiar el mecanismo de control cardiovascular en prácticamente dos mecanismos. Primero, por el aumento de la expresión de la eNOS y, consecuentemente, de la producción de NO, y segundo, por la producción de la enzima superóxido dismutasa extracelular (ecSOD), que posee la capacidad de reaccionar con los O<sub>2</sub><sup>-</sup>, aumentando potencialmente la disponibilidad de NO para la célula muscular lisa vascular<sup>11,20</sup>.

De tal forma, el ejercicio físico puede regular la vasodilatación mediada por el NO disminuyendo los valores de presión arterial en la mayoría de los individuos hipertensos<sup>2</sup>. Con todo, aun existen controversias entre los estudios con relación a los efectos benéficos del ejercicio físico en el aumento de las concentraciones de NO y en la respuesta vasodilatadora en individuos portadores del polimorfismo del gen de la eNOS<sup>11</sup>.

Así, el objetivo de este estudio fue investigar la influencia que el ejercicio físico regular y el polimorfismo T-786C del gen de la eNOS tendrían en los niveles circulantes de los metabolitos del NO (NOx), en la actividad de la ecSOD, en el flujo sanguíneo (FS) y en la presión arterial (PA) de mujeres añosas pre-hipertensas.

## Materiales y métodos

### Participantes

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la *University of Maryland College Park/USA* y por el Comité de Ética en Investigación del Instituto de Biociencias/CEP-IB-UNESP.

En su primera visita al laboratorio, todos los participantes firmaron un término de consentimiento libre y aclarado. Participaron 32 mujeres aparentemente sanas, entre 50-70 años, sedentarias, prehipertensas (sin uso de medicación), no diabética y no fumante. Las mujeres con sobrepeso y obesidad (IMC > 37 kg/m<sup>2</sup>) fueron eliminadas del estudio para evitar la interferencia de estas variables en los resultados de este estudio.

Las participantes fueron divididas en dos grupos según el resultado del análisis del polimorfismo del gen de la eNOS, siendo clasificadas como TT y TC+CC. Las mujeres en el período de post-menopausia (83,0% del total de las participantes), que hacían uso de terapia de reposición hormonal (45,0% de las participantes), mantuvieron las medicaciones durante el estudio.

### Procedimientos

Todos los participantes realizaron el test de Bruce en cinta con electrocardiograma para la detección de enfermedad cardiovascular, según descrito previamente<sup>21</sup>. Un registro de dieta fue realizado y las participantes fueron instruidas a mantener la fase 1 de la dieta del American Heart Association (AHA), con estabilidad del peso por lo menos 3 semanas, según descrito previamente<sup>22</sup>. Todos los tests básicos fueron realizados antes y después de 6 meses de un programa de

entrenamiento físico y la diferencia entre las evaluaciones pre y post (post – pre = diferencia) también fue utilizada para fines de verificar la eficacia del entrenamiento en cada variable estudiada.

### Tests básicos

Las evaluaciones comprendieron los tests de consumo máximo de oxígeno (VO<sub>2</sub>max), flujo sanguíneo (FS), presión arterial (PA) y recolección sanguínea.

*Consumo máximo de oxígeno (VO<sub>2</sub>max)* - El VO<sub>2</sub>max fue determinado por el test de agotamiento voluntario, a través de un sistema de calorimetría indirecta (modelo 2300, Hans Rudolph, Inc., Kansas City, Missouri) y analizador de gases (modelo 1100, Perkin Elmer, Inc., Danbury, Connecticut) conectados a una computadora. El VO<sub>2</sub>max fue determinado cuando dos de los tres criterios fuesen alcanzados: intercambio respiratorio > 1,1; Frecuencia cardíaca > 220 - edad; y un aumento mayor que 150 ml min<sup>-1</sup> en el VO<sub>2</sub> durante los dos últimos minutos de test<sup>23</sup>. Durante el test, la frecuencia cardíaca (FC), PA y el electrocardiograma fueron monitoreados.

*Flujo sanguíneo* - Todos los participantes fueron conducidos al laboratorio entre las 7:00 y 9:00 horas después de un ayuno de 12 horas. Los participantes permanecieron en reposo, en la posición acostada por 15 minutos, y el flujo sanguíneo fue medido en el antebrazo no dominante usando la técnica de pletismografía de oclusión venosa. Usando un inflador automático, un pequeño manguito fue inflado alrededor de la muñeca y un manguito mayor alrededor del brazo (húmero) a 180 mmHg y 55 mmHg, respectivamente. Para criar la isquemia del brazo, el manguito fue inflado a 50 mmHg encima de la presión arterial sistólica de reposo, siendo mantenida por 5 minutos. Después de ese período de isquemia, el manguito de la muñeca fue inflado nuevamente y el del brazo fue inflado a 55 mmHg, a cada minuto<sup>24</sup>. Ha sido mostrado que el tejido posee la capacidad de recuperarse de la isquemia en tres minutos y que el pico de vasodilatación ocurre en aproximadamente un minuto después de la liberación del manguito<sup>24,25</sup>. Así, el FS fue medido en reposo (FS-0) y uno, dos y tres minutos de hiperemia reactiva (FS-1, FS-2 y FS-3, respectivamente), después de los 5 minutos de isquemia. La FC y la PA fueron medidas simultáneamente en el otro brazo. La resistencia vascular (RV) del brazo fue calculada con la media de la PA dividida por el FS.

*Presión arterial casual* - Las PA sistólica y PA diastólica (PAS y PAD) fueron medidas después de 15 minutos de reposo en la posición sentado, en tres días separados de acuerdo con el JNC 7 guidelines<sup>26</sup>. La media de las tres medidas fue considerada para fines de análisis de datos.

*Análisis sanguíneo* - Las muestras sanguíneas fueron colectadas en tubos heparinizados para el análisis de la actividad de la ecSOD, y en tubos conteniendo EDTA para análisis de las concentraciones de los metabolitos del NO (NOx), después de un ayuno de 12 horas, siendo centrifugadas a 2.000 rpm, a 4° C y por 20 minutos. El supernadante plasmático fue inmediatamente transferido para eppendorfs y congelado a -80° C para análisis posterior.

*Concentración de los metabolitos de NO* - El plasma fue ultrafiltrado y los metabolitos del óxido nítrico (NOx) fueron

analizados por ensayo de Greiss (análisis de las concentraciones de nitrato después de conversión de nitrato para nitrito), según descrito previamente<sup>21,27</sup>. Las muestras fueron analizadas en duplicatas y la media entre ellas fue considerada para fines de análisis estadístico. Los coeficientes de variación intra y inter fueron de 3,3% y 4,9%, respectivamente.

**Actividad de la ecSOD** - La actividad de la ecSOD plasmática fue medida a través de kits comerciales de la Cayman Chemicals (Ann Arbor, MI). Las muestras fueron analizadas en duplicado y la media entre ellas fue considerada para fines de análisis estadístico. Los coeficientes de variación intra y inter fueron de 22,0% y 7,0%, respectivamente.

**Análisis genético** - El ADN de los participantes fue aislado de los leucocitos utilizando el kit de la PureGene (Gentra System, Minneapolis, MN). El polimorfismo T-786C del gen de la eNOS fue detectado a través de reacciones en cadena de polimerasa (PCR), utilizando los siguientes primers: F:5'-CACCCAGGCCACCCCAACT-3' and R:5'-GCCGAGGTCGACAGAGACT-3'. EL ADN fue desnaturalizado por 5 minutos a 95°C, seguido de 35 ciclos de desnaturalización (30s, 95°C), anillamiento (15s, 54°C) y extensión (30s, 72°C). El producto del PCR fue digerido por la enzima MspI a 37°C, seguido de 4 horas en gel de agarosa a 2,0%. El alelo T produjo un fragmento de 415 bp, el alelo C produjo fragmentos de 370 bp y 45 bp.

Los portadores del alelo C fueron agrupados en un mismo grupo (TC+CC) siendo comparados con el grupo TT. La frecuencia del genotipo TT y TC+CC en la población es de aproximadamente 32,0% y 68,0%, respectivamente<sup>28-31</sup>. El alelo C es considerado capaz de generar efectos deletéreos en el sistema cardiovascular y ambos genotipos (TC y CC) demuestran respuestas similares, diferentemente del genotipo TT<sup>13,29</sup>. De esa forma, es apropiado agrupar ambos genotipos TC y CC en un mismo grupo para análisis de este estudio.

### Entrenamiento físico aeróbico

Todos los participantes realizaron un programa supervisado de ejercicios físicos aeróbico, en cinta ergométrica, durante 6 meses, tres veces por semana, con intensidad progresiva durante las semanas. Con calentamiento y relajamiento apropiados, la sesión inicial consistió en 20 minutos de ejercicio aeróbico a 50,0% del VO<sub>2</sub>max. La duración del entrenamiento fue aumentada 5 minutos por semana hasta alcanzar 40 minutos. A partir de ese momento, la intensidad era aumentada en 5,0% del VO<sub>2</sub>max cada semana hasta alcanzar 70,0%. El control de la intensidad fue realizado a través de monitores de frecuencia cardíaca.

Apenas los participantes que completaron 75,0% de las sesiones de entrenamiento fueron incluidos en los resultados finales de este estudio.

### Análisis estadístico

Fue realizado un análisis descriptivo para ambos grupos (TT y TC+CC) y una ANOVA one-way para detectar diferencias estadísticas entre los grupos, teniendo en consideración el polimorfismo T-786C del gen de la eNOS como variable independiente y, como variable dependiente, el IMC, la PA, la VO<sub>2</sub>max, la NOx y la actividad de la ecSOD. Una ANOVA

two-way fue realizada teniendo como variable independiente el genotipo y el ejercicio físico, y, como variable dependiente, el FS, la PA y el IMC. El análisis de correlación de Pearson también fue realizado buscando detectar posibles relaciones entre las variables analizadas en este estudio.

Todos los resultados fueron expresados en media y error estándar de la media. El nivel de significancia fue de  $p < 0,05$ . Los datos fueron analizados usando el paquete estadístico SPSS 13.0.

## Resultados

Treinta y dos mujeres pre hipertensas fueron divididos en dos grupos, de acuerdo con el polimorfismo T-786C del gen de la eNOS (TT - 20 participantes y TC+CC - 12 participantes).

Ninguna diferencia estadística fue encontrada entre los grupos en las variables PAS, PAD y IMC, antes y después del programa de ejercicio físico. El VO<sub>2</sub>max aumentó significativamente en ambos grupos, después del programa de ejercicio físico.

Los valores de IMC, PA y VO<sub>2</sub>max de ambos grupos están detallados en la Tabla 1.

En la evaluación preentrenamiento, los niveles de NOx fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0,03$ ) entre los grupos y, como esperado, el grupo TC+CC presentó valores más bajos con relación al grupo TT (Figura 1-A). La actividad de la ecSOD fue 30,0% menor en el grupo TC+CC con relación al grupo TT, pero esta diferencia no se presentó estadísticamente significativa (Figura 1-B).

En la evaluación post-entrenamiento, el grupo TT mantuvo los valores plasmáticos de NOx del momento preentrenamiento, mientras que el grupo TC+CC tuvo un aumento en estos niveles. Después del programa de ejercicio físico (Figura 1-A), ninguna diferencia significativa fue encontrada entre los grupos, o sea, la diferencia encontrada en la evaluación preentrenamiento no permaneció significativa después del entrenamiento físico.

Tanto en la evaluación pre como en la evaluación post programa de ejercicio físico, ninguna diferencia estadística

**Tabla 1 - Características individuales para ambos grupos antes y después de 6 meses de un programa regular de ejercicio aeróbico**

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

IMC - índice de masa corporal; PAS - presión arterial sistólica; PAD - presión arterial diastólica; VO<sub>2</sub>max - volumen máximo de oxígeno. Valores expresados en media ± error estándar de la media. \*Diferencia significativa entre pre y post entrenamiento ( $p < 0,05$ ).

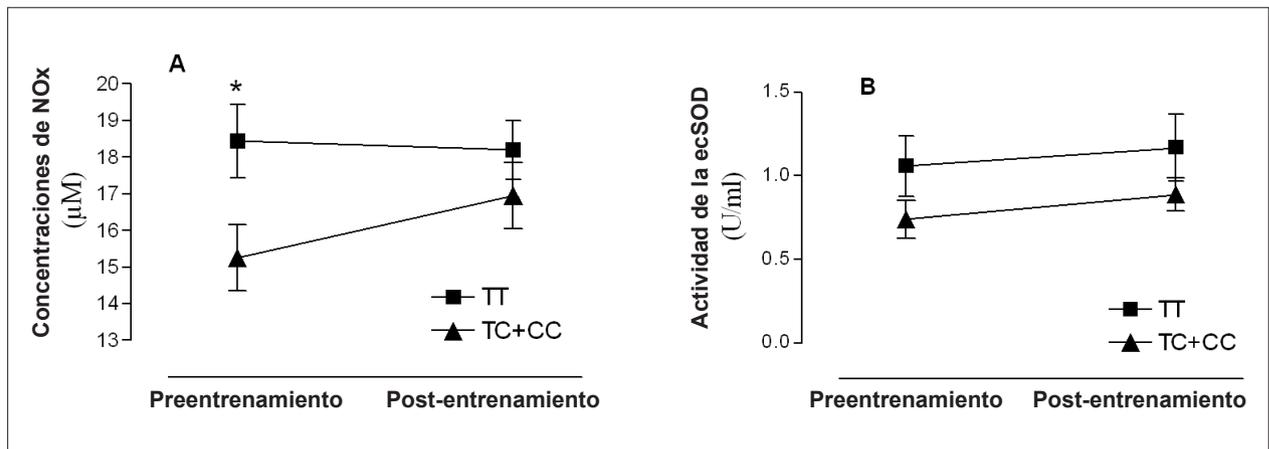


Fig. 1 - Concentraciones plasmáticas de NOx (A) y actividad de la ecSOD (B) antes y después de 6 meses de ejercicio aeróbico, entre añosas prehipertensas, subdivididas de acuerdo al polimorfismo T-786C del gen de la eNOS. \*Diferencia estadística entre los grupos ( $p < 0,05$ ).

fue observada entre los grupos en la variable flujo sanguíneo y en la resistencia vascular periférica. Aunque tal resultado no haya alcanzado diferencias estadísticas, el grupo TC+CC presentó valores mayores de flujo sanguíneo comparado al grupo TT en la evaluación preentrenamiento, sugiriendo una menor tasa de recuperación del flujo sanguíneo (Figura 2-A). En la evaluación post-entrenamiento, esa pequeña diferencia no fue percibida, presentando ambos grupos prácticamente el mismo resultado (Figura 2-B). Básicamente, la resistencia vascular tuvo el mismo comportamiento del flujo sanguíneo en relación a ambos grupos y evaluaciones (Figura 2-C y 2-D).

El análisis de correlación de Pearson encontró en la evaluación pre-entrenamiento para el grupo TT, correlaciones entre NOx y FS-0, también encontradas entre PAD y las variables de flujo y resistencia (FS-0, RV-0 y RV-1). En la evaluación post-entrenamiento, hubo correlaciones entre NOx y FS-0 y entre los cambios de la NOx y los cambios en la PAD. Para el grupo TC+CC, ninguna correlación significativa fue encontrada en la evaluación pre-entrenamiento, pero, en la evaluación post-entrenamiento, fueron encontradas correlaciones entre PAD y FS-1, FS-2 y FS-3 y entre los cambios en la NOx y los cambios en el FS-1 y PAD. Todas las correlaciones encontradas están resumidas en la Tabla 2.

## Discusión

El presente estudio fue desarrollado para evaluar el potencial efecto del polimorfismo T-786C del gen de la eNOS y de 6 meses de un programa regular de ejercicio físico en las respuestas hemodinámicas de mujeres añosas pre-hipertensas.

El NO posee una importante función en el control vascular, especialmente en la vasodilatación. Tanto la actividad de la eNOS como los mecanismos responsables por la biodisponibilidad del NO contribuyen a la mantención de una adecuada concentración de óxido nítrico en el vaso sanguíneo, y ambos mecanismos pueden ser afectados por el ejercicio físico.

Como era esperado, después de 6 meses de ejercicio aeróbico, el resultado del  $VO_2$ max tuvo un aumento significativo para ambos grupos, demostrando que la

intervención aplicada poseyó estímulo suficiente para mejorar la capacidad aeróbica de las participantes.

En la presión arterial, tanto sistólica cuanto diastólica, ninguna diferencia fue encontrada entre los grupos y entre las evaluaciones pre y post-entrenamiento. Diversos estudios han evidenciado un efecto benéfico del ejercicio físico sobre la presión arterial. Por ejemplo, Hagberg et al<sup>32</sup> observaron que el ejercicio físico regular posee la capacidad de disminuir la PA en aproximadamente 75,0% de los individuos hipertensos y que el entrenamiento con intensidad moderada parece generar mayores beneficios que los de alta intensidad, para tales reducciones. Higashi et al<sup>4</sup> observaron un efecto benéfico del ejercicio aeróbico regular en los valores de PA para individuos hipertensos.

Cabe resaltar, mientras tanto, que esos estudios hacen referencia a los efectos benéficos del ejercicio físico en individuos hipertensos, diferentemente del presente estudio, que utilizó individuos pre-hipertensos, hecho que podría justificar la ausencia de diferencias en los valores de presión arterial entre las evaluaciones pre y post-entrenamiento físico.

El polimorfismo T-786C del gen de la eNOS es potencialmente importante para el control cardiovascular, pues ha sido relatado que la presencia del alelo C disminuye la expresión de este gen<sup>33</sup>. En el presente estudio, los metabolitos del NO fueron significativamente menores para el grupo TC+CC comparado con el grupo TT, en la evaluación pre-entrenamiento. Tal resultado está en concordancia con estudios previos, que también mostraron que individuos portadores del alelo C para el mismo polimorfismo poseían menores concentraciones de NO<sup>13,34,35</sup>. Por ejemplo, Nakayama et al<sup>13</sup> observaron que los portadores del alelo C poseen una disminución de 50,0% de la actividad promotora cuando es comparado a los individuos portadores del alelo T, el cual es consistente con el concepto de que el alelo C puede reducir las concentraciones de NO.

En la evaluación post-entrenamiento, ninguna diferencia fue encontrada para los valores de NOx en el grupo TT. Una posible explicación para ese resultado es que las concentraciones de NOx de los participantes de ese grupo, debido a la ausencia de diferencia entre las evaluaciones pre y

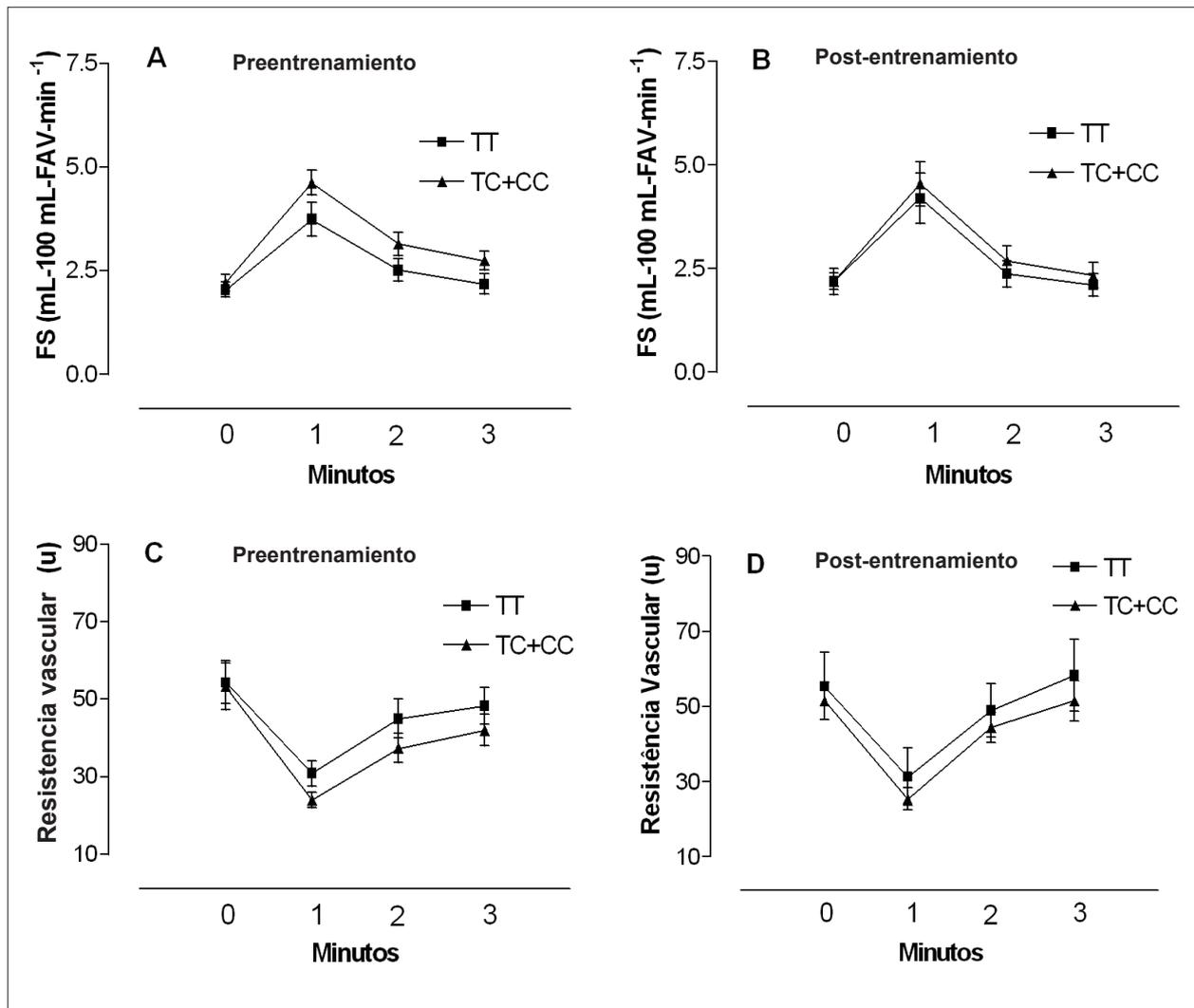


Fig. 2 - Flujo sanguíneo (panel A y B) y resistencia vascular (panel C y D) de reposo (0) y durante tres minutos de hiperemia reactiva en añosas prehipertensas, subdivididas de acuerdo al polimorfismo T-786C del gen de la eNOS, antes y después de 6 meses de un programa aeróbico de ejercicio físico.

post-entrenamiento, ya se encuentran en valores ideales para mantener el control de la PA. Para el grupo TC+CC, los niveles de NOx aumentaron después del entrenamiento aeróbico, pero este aumento no fue estadísticamente significativo. Tal resultado sugiere que, aunque el entrenamiento físico realizado no haya sido suficiente para aumentar las concentraciones de NOx, hubo un aumento de la actividad de la eNOS en individuos portadores del alelo C, pues la diferencia existente entre los grupos en la evaluación pre-entrenamiento para la NOx, no se mantuvo significativa en la evaluación post-entrenamiento. Ese resultado está en concordancia con varios otros estudios que mostraron resultados similares<sup>3,20,36</sup>.

Existen crecientes evidencias para indicar que el ejercicio crónico aumenta el sistema de defensa antioxidante en vasos sanguíneos de humanos a través del aumento de la actividad de la ecSOD<sup>8,14,37</sup>. El ejercicio aeróbico puede aumentar la actividad de la ecSOD y potencialmente aumentar la biodisponibilidad de NO<sup>11,20</sup>. Mientras tanto, la

actividad biológica del NO es dependiente de los aniones superóxidos, los cuales comprometen la funcionalidad del NO<sup>38</sup>. En el presente estudio, la actividad de la ecSOD fue menor para el grupo TC+CC comparado al grupo TT en la evaluación pre-entrenamiento, pero esta diferencia no alcanzó significancia estadística.

Después del programa de ejercicio, ambos grupos aumentaron proporcionalmente la actividad de la ecSOD, pero este aumento permaneció sin diferencias estadísticas entre las evaluaciones y grupos. De esa forma, se sugiere que la capacidad antioxidante relacionada a la biodisponibilidad de NO no está perjudicada en los participantes de este estudio. Ese resultado está en concordancia con el estudio de Di Massimo et al<sup>38</sup>, que evidenciaron los valores de NOx independientemente de los valores de ecSOD.

La liberación del NO ha sido considerada como un fuerte mediador para la hiperemia reactiva en arterias periféricas<sup>4</sup>. De ese modo, bajos niveles de NOx observados en el grupo TC+CC, asociado a las respuestas del FS entre los grupos en

**Tabla 2 - Correlación de Pearson entre las variables NOx, PA, y FS de añosas pre-hipertensas, subdivididas de acuerdo con el polimorfismo T-786C del gen de la eNOS, en los momentos pre y post-entrenamiento físico**

	r	p
TT		
Pre-entrenamiento		
NOx versus FS-0	0,6	0,05
PAD versus FS-0	-0,7	0,04
PAD versus RV-0	0,8	0,01
PAD versus RV-1	0,6	0,04
Post-entrenamiento		
NOx versus FS-0	0,6	0,05
Cambios con el entrenamiento físico		
NOx versus PAD	-0,6	0,05
TC+CC		
Pre-entrenamiento		
Ninguna correlación	-	-
Post-entrenamiento		
PAD versus FS-1	-0,8	0,01
PAD versus FS-2	-0,6	0,05
PAD versus FS-3	-0,6	0,05
Cambios con el entrenamiento físico		
NOx versus FS-1	0,8	0,01
NOx versus PAD	-0,7	0,03

NOx - metabolitos del óxido nítrico; FS - flujo sanguíneo (reposo y después de uno, dos y tres minutos de hiperemia reactiva); PAD - presión arterial diastólica.

la evaluación pre-entrenamiento, están en concordancia con otros estudios que mostraron resultados similares<sup>24</sup>. Aunque ninguna diferencia haya sido encontrada en la variable FS, el grupo TT presentó menores respuestas en la evaluación pre-entrenamiento. Tal resultado indica que el grupo TT volvió a los valores de reposo más rápidamente que el grupo TC+CC.

A pesar de que los individuos portadores del alelo C presentaron niveles menores de NOx y menor actividad de la ecSOD en la evaluación pre-entrenamiento, el flujo sanguíneo aun permaneció relativamente elevado. Ese resultado sugiere que existen varias otras sustancias que pueden estar contribuyendo a esta respuesta cardiovascular, como por ejemplo, potasio, oxígeno, dióxido de carbono y adenosina<sup>39,40</sup>. A partir del momento en que los portadores del alelo C poseen alguna disfunción vascular, es posible que otros vasodilatadores estén actuando para controlar las respuestas al flujo sanguíneo, compensando así la reducida producción de NO<sup>17,40</sup>.

En el grupo TC+CC, ninguna correlación fue encontrada en la evaluación pre-entrenamiento entre las variables

NOx, FS y PA. Ese resultado puede ser explicado por el efecto deletéreo del alelo C en la regulación entre producción y biodisponibilidad del NO. Mientras tanto, con las correlaciones encontradas en la evaluación post-entrenamiento entre las variables de presión arterial, flujo sanguíneo y NOx, se puede afirmar que 6 meses de un programa regular de ejercicios aeróbicos pueden contribuir a aumentar la relación existente entre esas variables en individuos portadores del alelo C.

Después del programa de ejercicio, aparentemente, el grupo TT poseía una respuesta normal para la función vascular, resultando en un reducido efecto del programa de ejercicio en reposo y después de la hiperemia reactiva en el FS. Para el grupo TC+CC, aunque los valores de flujo sanguíneo hayan sido más altos, los individuos tuvieron respuestas similares comparadas a las respuestas del grupo TT. Siendo así, parece que la capacidad de retorno a la homeostasis más rápidamente, en el grupo TC+CC en la evaluación post-ejercicio, puede indicar una respuesta favorable del entrenamiento físico, resultando en una mejora de la función vascular periférica. Tal resultado está en concordancia con estudios previos que mostraron un efecto benéfico del ejercicio físico en el flujo sanguíneo en diferentes genotipos<sup>4,24,36</sup>.

A pesar de que este estudio posee algunas limitaciones, como por ejemplo, exclusión de determinadas características poblacionales (obesos, diabéticos, cardiopatas etc.), del análisis de apenas un polimorfismo y de solamente algunas sustancias relacionadas tanto a la producción como a la biodisponibilidad del NO, es posible sugerir un efecto benéfico del ejercicio físico frente a las variables analizadas.

En resumen, el presente estudio encontró un efecto positivo del programa de ejercicio físico con relación al polimorfismo T-786C del gen de la eNOS. Eso sugiere que un aumento del nivel de actividad física regular puede mejorar la respuesta al control cardiovascular, especialmente del NO en portadores del alelo C, contribuyendo a la relación entre presión arterial y flujo sanguíneo.

## Agradecimientos

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

## Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

## Fuentes de Financiamiento

El presente estudio fue financiado por Grant KO1AG019640 (M.D. Brown).

## Vinculación Académica

No hay vinculación de este estudio a programas de post grado.

### Referencias

- Channon KM, Guzik TJ. Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol*. 2002; 53 (4 Pt 1): 515-24.
- Rush JW, Denniss SG, Graham DA. Vascular nitric oxide and oxidative stress: determinants of endothelial adaptations to cardiovascular disease and to physical activity. *Can J Appl Physiol*. 2005; 30 (4): 442-74.
- Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res*. 1994; 74 (2): 349-53.
- Higashi Y, Sasaki S, Sasaki N, Nakagawa K, Ueda T, Yoshimizu A, et al. Daily aerobic exercise improves reactive hyperemia in patients with essential hypertension. *Hypertension*. 1999; 33 (1 Pt 2): 591-7.
- Moncada S. Nitric oxide. *J Hypertens Suppl*. 1994; 12 (10): S35-9.
- Zago AS, Zanesco A. Nitric oxide, cardiovascular disease and physical exercise. *Arq Bras Cardiol*. 2006; 87 (6): e264-70.
- Ersb S, Baither Y, Linke A, Adams V, Shu Y, Lenk K, et al. Promoter but not exon 7 polymorphism of endothelial nitric oxide synthase affects training-induced correction of endothelial dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23 (10): 1814-9.
- Guzik TJ, Olszanecki R, Sadowski J, Kapelak B, Rudzinski P, Jopek A, et al. Superoxide dismutase activity and expression in human venous and arterial bypass graft vessels. *J Physiol Pharmacol*. 2005; 56 (2): 313-23.
- Heltianu C, Costache G, Gafencu A, Diaconu M, Bodeanu M, Cristea C, et al. Relationship of eNOS gene variants to diseases that have in common an endothelial cell dysfunction. *J Cell Mol Med*. 2005; 9 (1): 135-42.
- Lauer T, Kleinbongard P, Kelm M. Indexes of NO bioavailability in human blood. *News Physiol Sci*. 2002; 17: 251-5.
- Rutherford PA. Genetic influences in human hypertension. *J Hypertens*. 2003; 21 (1): 19-22.
- Touyz RM, Schiffrin EL. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. *Histochem Cell Biol*. 2004; 122 (4): 339-52.
- Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H, et al. T-786->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation*. 1999; 99 (22): 2864-70.
- Campo S, Sardo AM, Campo GM, D'Ascola A, Avenoso A, Castaldo M, et al. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) gene mutations screening in a sample of Mediterranean population. *Mutat Res*. 2005; 578 (1-2): 143-8.
- Landmesser U, Harrison DG, Drexler H. Oxidant stress-a major cause of reduced endothelial nitric oxide availability in cardiovascular disease. *Eur J Clin Pharmacol*. 2006; 62 (Suppl 1): 13-9.
- Vaneckova I, Kramer HJ, Novotna J, Kazdova L, Opocensky M, Bader M, et al. Roles of nitric oxide and oxidative stress in the regulation of blood pressure and renal function in prehypertensive Ren-2 transgenic rats. *Kidney Blood Press Res*. 2005; 28 (2): 117-26.
- Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol*. 1999; 31 (1): 61-74.
- Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension*. 2004; 44 (3): 248-52.
- Park JY, Ferrell RE, Park JJ, Hagberg JM, Phares DA, Jones JM, et al. NADPH oxidase p22phox gene variants are associated with systemic oxidative stress biomarker responses to exercise training. *J Appl Physiol*. 2005; 99 (5): 1905-11.
- Higashi Y, Yoshizumi M. Exercise and endothelial function: role of endothelium-derived nitric oxide and oxidative stress in healthy subjects and hypertensive patients. *Pharmacol Ther*. 2004; 102 (1): 87-96.
- Weiss EP, Park JJ, McKenzie JA, Park JY, Kulaputana O, Brown MD, et al. Plasma nitrate/nitrite response to an oral glucose load and the effect of endurance training. *Metabolism*. 2004; 53 (5): 673-9.
- Feairheller DL, Brown MD, Park JY, Brinkley TE, Basu S, Hagberg JM, et al. Exercise training, NADPH oxidase p22phox gene polymorphisms, and hypertension. *Med Sci Sports Exerc*. 2009; 41 (7): 1421-8.
- Jones JM, Dowling TC, Park JJ, Phares DA, Park JY, Obisesan TO, et al. Differential aerobic exercise-induced changes in plasma aldosterone between African Americans and Caucasians. *Exp Physiol*. 2007; 92 (5): 871-9.
- Data SA, Roltsch MH, Hand B, Ferrell RE, Park JJ, Brown MD. eNOS T-786C genotype, physical activity, and peak forearm blood flow in females. *Med Sci Sports Exerc*. 2003; 35 (12): 1991-7.
- Hand BD, Roth SM, Roltsch MH, Park JJ, Kostek MC, Ferrell RE, et al. AMPD1 gene polymorphism and the vasodilatory response to ischemia. *Life Sci*. 2006; 79 (15): 1413-8.
- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003; 42 (6): 1206-52.
- Brown MD, Hogikyan RV, Dengel DR, Supiano MA. Sodium-sensitive hypertension is not associated with higher sympathetic nervous system activity in older hypertensive humans. *Am J Hypertens*. 2000; 13 (8): 873-83.
- Tanus-Santos JE, Desai M, Flockhart DA. Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants. *Pharmacogenetics*. 2001; 11 (8): 719-25.
- Rossi GP, Taddei S, Viridis 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*. 2003; 41(6): 938-45.
- Nagassaki S, Metzger IF, Souza-Costa DC, Marroni AS, Uzuelli JA e Tanus-Santos JE. eNOS genotype is without effect on circulating nitrite/nitrate level in healthy male population. *Thromb Res*. 2005; 115 (5): 375-9.
- Sandrim VC. Influence of T-786C polymorphism on the promoter activity of eNOS. *Clin Chim Acta*. 2006; 367 (1-2): 208.
- Hagberg JM, Park JJ, Brown MD. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. *Sports Med*. 2000; 30 (3): 193-206.
- Wang XL, Wang J. Endothelial nitric oxide synthase gene sequence variations and vascular disease. *Mol Genet Metab*. 2000; 70 (4): 241-51.
- Dengel DR, Brown MD, Ferrell RE, Reynolds TH, Supiano MA. A preliminary study on T-786C endothelial nitric oxide synthase gene and renal hemodynamic and blood pressure responses to dietary sodium. *Physiol Res*. 2007; 56: 393-401.
- Metzger IF, Souza-Costa DC, Marroni AS, Nagassaki S, Desta Z, Flockhart DA, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes associated with circulating concentrations of nitric oxide products in healthy men. *Pharmacogenet Genomics*. 2005; 15 (8): 565-70.
- Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *Faseb J*. 2000; 14 (12): 1685-96.
- Ohta M, Nanri H, Matsushima Y, Sato Y, Ikeda M. Blood pressure-lowering effects of lifestyle modification: possible involvement of nitric oxide bioavailability. *Hypertens Res*. 2005; 28 (10): 779-86.
- Di Massimo C, Scarpelli P, Di Lorenzo N, Caimi G, Di Orio F, Ciancarelli MG. Impaired plasma nitric oxide availability and extracellular superoxide dismutase activity in healthy humans with advancing age. *Life Sci*. 2006; 78 (11): 1163-7.
- Koramaz I, Ozkan M, Altun G, Guven KY, Kadioglu Duman M, Kalyoncu NI, et al. Effects of papaverine and carbon dioxide alone or in combination on the blood flow of internal thoracic artery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006; 132 (5): 1126-30.
- Juel C, Olsen S, Rentsch RL, Gonzalez-Alonso J, Rosenmeier JB. K+ as a vasodilator in resting human muscle: implications for exercise hyperaemia. *Acta Physiol (Oxf)*. 2007; 190 (4): 311-8.