

Efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a bioatividade do óxido nítrico e a vasodilatação aórtica

CDD. 20.ed. 574.192
613.7

Nelo Eidy ZANCHI*
Luiz Roberto Grassmann BECHARA*
Leonardo Yuji TANAKA**
Vitor DEBBAS**
Teresa BARTHOLOMEU*
Paulo Rizzo RAMIRES*

*Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo.
**Instituto do Coração, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Resumo

O treinamento físico aeróbio (TF) é um importante meio para melhorar a função endotelial. Entretanto, como os vasos se adaptam ao TF ainda não está completamente esclarecido. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo investigar, em ratos normotensos, os efeitos do TF sobre a via de produção de óxido nítrico (NO) e a defesa antioxidante vascular, e suas conseqüências sobre a resposta vasodilatadora em aorta isolada. Os ratos foram submetidos a um protocolo de TF aeróbio (esteira rolante, ~55% Veloc.Máx; cinco sessões/sem., 60 min/sessão, período de 11 semanas). Após o TF, foi avaliada a função vasomotora "in vitro" pela curva de concentração-efeito à acetilcolina (ACh) e ao nitroprussiato de sódio (NPS), e realizadas medidas bioquímicas na aorta. O programa de TF aumentou significativamente ($P < 0,05$) em 62% a expressão da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). Entretanto, o TF não modificou significativamente a expressão e atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase. Além disso, o TF não modificou o relaxamento individual e a sensibilidade à ACh. Por outro lado, o TF diminuiu significativamente a sensibilidade ao NPS ($-8,26 \pm 0,081$ vs. $-7,79 \pm 0,099$ Log [M], S vs T, respectivamente, $P < 0,001$). Os resultados apresentados demonstram que o TF aeróbio foi capaz de alterar um dos mecanismos envolvidos na bioatividade do NO, marcadamente o aumento da expressão da eNOS. Entretanto, esta modificação não levou à melhora da responsividade vasodilatadora aórtica estimulada pela acetilcolina e provocou menor sensibilidade ao NPS.

UNITERMOS: Treinamento físico; Função endotelial; Relaxamento aórtico; Óxido nítrico; Superóxido dismutase.

Introdução

O óxido nítrico (NO) produzido pelas células endoteliais vasculares é um importante regulador da função vascular (FURCHGOTT & ZAWADSKI, 1980). A manutenção da função endotelial normal, associada a uma adequada biodisponibilidade de NO, é fundamental para a homeostase vascular, tais como a modulação do fluxo sanguíneo, da agregação plaquetária e da angiogênese vascular (LANDMESSER, HORNIG & DREXLER, 2004). Por outro lado, a disfunção endotelial, caracterizada por diminuição da biodisponibilidade de NO, tem sido observada na hipertensão arterial (GRAHAM & RUSH,

2001) e é considerada fator de risco independente para o desenvolvimento da aterosclerose (SCHASCHINGER, BRITTEN & ZEIHNER, 2000).

A biodisponibilidade de NO depende do balanço entre a produção e remoção do mesmo. A produção de NO é catalisada pela enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). Por outro lado, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, os quais reagem em alta velocidade com o NO, contribui para diminuir a biodisponibilidade de NO. Além disso, a reação entre estes dois radicais leva à formação de peróxido nítrico, um oxidante

sem efeito vasodilatador (FUKAI, SIEGFRIED, FUKAI, CHENG, KOJDA & HARRISON, 2000).

O exercício físico aeróbio promove efeitos benéficos à saúde, dentre eles a melhora da função endotelial, a qual está associada a uma maior biodisponibilidade de NO (MYERS, 2003). Sinais físicos e químicos estimulam a resposta endotelial. O estresse de cisalhamento, neste artigo chamado de “shear stress”, é um importante estimulador da produção de NO pelo endotélio, estimulando assim a vasodilatação (DELP, 1995). Interessantemente, o exercício físico também aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (RAMIRES & JI, 2001), o que contribuiria para uma maior inativação do NO. Além disso, a resposta vasodilatadora parece depender não apenas da biodisponibilidade de NO, como também da sensibilidade do músculo liso arterial ao NO.

Por outro lado, tem sido postulado também que a aumentada responsividade dilatadora aórtica pode ocorrer não em consequência do aumento nos processos de síntese do NO, mas sim em decorrência

da maior eficiência de enzimas varredoras de radicais livres (GOLDSTEIN & CZAPSKI, 1995). Dessa forma, o treinamento físico aeróbio é capaz de promover aumentos na atividade e expressão de diversas enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase e a glutatona peroxidase (POWERS, CRISWELL, LAWLER, MARTIN, LIEU, JI & HERB, 1993; RUSH, TURK & LAUGHLIN, 2003). Além disso, (WISLOFF, NAJJAR, ELLINGSEN, HARAM, SWOAP, AL-SHARE, FERNSTRO, REZAEI, LEE, KOCH & BRITTON, 2005), demonstraram que ratos com maior capacidade aeróbia possuem melhor resposta vasodilatadora endotélio dependente, embora os autores não tenham avaliado os mecanismos envolvidos nesta adaptação.

O presente estudo teve por objetivo caracterizar, em ratos normotensos, os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a expressão da enzima eNOS e a expressão/atividade da enzima antioxidante SOD, bem como suas repercussões sobre a resposta vasodilatadora em aorta isolada.

Materiais e métodos

Animais

Foram estudados 20 ratos machos Wistar, obtidos do biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os ratos foram alimentados com dieta para roedores e água “ad libitum”, e mantidos em caixas plásticas em biotério com temperatura controlada (22 °C). Após o recebimento, os ratos foram aclimatados por um período de uma semana. Em seguida, eles foram distribuídos, ao acaso, em dois grupos experimentais: grupo sedentário (S, n = 10) e grupo treinado (T, n = 10). O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da Escola de Educação Física e Esporte da USP.

Protocolo de teste de esforço máximo

Inicialmente, os ratos dos grupos S e T foram submetidos a um teste de esforço máximo em esteira rolante, para a determinação da velocidade máxima (Vel. Máx) de cada animal. Foi utilizado um protocolo de incremento progressivo de velocidade de corrida (3 m/min a cada 3 min), até a exaustão (GAVA, VÉRAS-SILVA, NEGRÃO & KRIEGER, 1995). A exaustão foi definida como a velocidade máxima suportada pelo animal ao ser estimulado

manualmente, antes de entrar em fadiga. O teste de esforço foi realizado pré-TF, após cinco semanas de TF (para ajuste da intensidade do TF) e após 11 semanas de TF (para aferição do efeito do TF).

Protocolo de treinamento físico aeróbio

Os ratos do grupo T realizaram o treinamento físico em esteira rolante, numa intensidade de 55% da Vel. Máx individual, duração de 11 semanas, frequência de cinco vezes por semana e duração de 60 minutos por sessão.

Sacrifício e retirada dos tecidos

Com a finalidade de minimizar os efeitos agudos do exercício, os ratos foram sacrificados 48 h após o término da última sessão de treinamento físico ou sedentarismo. Em seguida, a aorta torácica e o músculo sóleo do trem posterior direito do animal foram extirpados. A aorta torácica foi limpa de tecido conectivo e/ou adiposo em tampão Krebs gelado (4 °C) e cortada em quatro segmentos de 4 mm de comprimento cada um, conforme descrito por CHERRY, FURCHGOTT, ZAWADZKI e JOTHIANANDAN (1982). O músculo sóleo foi congelado (-70 °C) e armazenado para análise bioquímica.

Função vasomotora aórtica “in vitro”

Cada anel aórtico (dois anéis do mesmo animal) foi suspenso em banho de órgão isolado (14 ml), contendo solução de Krebs-Hepes (em mM/L: NaCl 115; KCl 4,7; MgSO₄ 1,2; KH₂PO₄ 1,5; NaHCO₃ 25; CaCl₂ 2,5; glicose 11,1; pH 7,4), mantidos em 37 °C e aerados com carbogênio (95% O₂ e 5% CO₂), para registro da tensão exercida pelo vaso com transdutor isométrico (BIOPAC, EUA).

Inicialmente, os anéis aórticos foram equilibrados durante 60 min numa tensão de repouso de 2 g. Em seguida, os vasos foram submetidos curva concentração-efeito para avaliação da resposta de relaxamento frente concentrações cumulativas de agonistas, conforme BAUERSACHS, BOULOUMIÉ, FRACAROLLO, HU, BUSSE e ERTL (1999).

Resposta vasodilatadora endotélio-dependente

Após a pré-contracção com noradrenalina (NE, 10⁻⁷ M), realizou-se o protocolo de resposta às concentrações crescentes de acetilcolina (ACh, 10⁻¹⁰ até 10⁻⁴ M), seguido de lavagem para remoção da acetilcolina.

Resposta vasodilatadora endotélio-independente

Após pré-contracção NE (10⁻⁷ M), realizou-se o protocolo de resposta às concentrações crescentes de nitroprussiato de sódio (NPS, 10⁻¹⁰ até 10⁻⁴ M).

Avaliação da função vasomotora

As curvas de relaxamento à ACh e ao NPS foram submetidas à análise de regressão não linear (sigmoideal) (GraphPad Prism, v. 4.00, San Diego, CA) para determinação da % de relaxamento individual e da sensibilidade (concentração de agonista que gerou 50% do relaxamento máximo; EC₅₀).

Determinações bioquímicas

Homogenato e concentração de proteína

Homogenatos da aorta foram preparados sob nitrogênio líquido e centrifugados por 5 min a

4 °C e 5.000 rpm. A concentração de proteína foi determinada pelo método adaptado de BRADFORD (1976).

Atividade da enzima citrato cintase

Foi determinada pela reação de 5,5'-ditio-bis(2-nitrobenzeno ácido) (DTNB) com o grupo sulfidril (SH) da CoASH, a 25 °C de acordo com SHEPHERD e GARLAND (1969).

Atividade da enzima superóxido dismutase

Foi realizada pelo método de redução do citocromo C, descrito por INOUE, RAMASAMY, FUKAI, NEREM e HARRISON (1996). Uma unidade de atividade SOD foi definida como 50% de inibição da reação de redução e normalizada pela concentração de proteína.

Expressão protéica

As expressões protéicas das enzimas SOD e eNOS foram realizadas por “western blot” em homogenatos normalizados pela concentração de proteína usando SDS-PAGE (SOD, 12%) e (eNOS, 8%), membranas de nitrocelulose e detecção quimioluminescente ECL (Amersham Pharmacia), conforme descrito por LEITE, DANILOVIC, MORIEL, DANTAS, MARKLUND, DANTAS e LAURINDO (2003). Anticorpos anti-SOD Cu/Zn (Oxis, EUA) e anti NOS-III (Upstate, EUA).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa GraphPad Prism (v. 4.00, San Diego, CA). As variáveis dependentes: massa corporal e Vel.Máx. foram submetidas à ANOVA de dois fatores para medidas repetidas: fator grupo (S x T) e fator fase (pré x pós-TF) e realizado o “post-hoc” de Bonferroni. As variáveis vasomotoras (% de relaxamento individual, EC₅₀) foram analisadas e as atividades e expressões enzimáticas da citrato sintase, superóxido dismutase e óxido nítrico sintase foram submetidos a teste t-Student para dados não pareados (S x T). O nível crítico de significância estatística foi de 5% (P < 0,05).

Resultados

Características físicas e funcionais

Massa corporal

A massa corporal pré-TF foi semelhante entre os grupos S e T ($265 \pm 2,7$ g vs. $264 \pm 5,6$ g, S e T, respectivamente). No entanto, na fase pós-TF, a massa corporal aumentou significativamente tanto no grupo S ($497 \pm 6,6$ g vs. $265 \pm 2,7$ g, $P < 0,05$) como T ($492 \pm 7,3$ g vs. $264 \pm 5,6$ g, $P < 0,05$) comparados com a fase pré-TF. Não houve diferença na massa corporal entre os grupos S e T na fase pós-TF.

Capacidade física

A velocidade máxima pré-TF foi semelhante entre os grupos S ($21 \pm 0,7$ m.min⁻¹) e T ($23 \pm 0,7$ m.min⁻¹). Entretanto, pós-TF, a velocidade máxima foi significativamente maior no grupo T comparado ao grupo S ($31 \pm 0,9$ vs. $20 \pm 0,7$ m.min⁻¹, $P < 0,05$).

Citrato sintase

Após o TF, a atividade da enzima citrato sintase no músculo sóleo foi significativamente maior

no grupo T comparado ao grupo S ($0,59 \pm 0,04$ vs. $0,45 \pm 0,02$ umol/min/mg prot., $P < 0,05$). Este aumento de 31% na atividade da citrato sintase demonstra a efetividade do programa de TF utilizado no presente estudo.

Enzimas vasculares

Expressão da enzima eNOS

O TF aumentou significativamente ($P < 0,05$) em 62% a expressão da eNOS aórtica, quando comparado com o grupo S (FIGURA 1).

Expressão da enzima SOD

O TF não modificou significativamente ($P = 0,1908$) a expressão da enzima SOD Cu/Zn aórtica (FIGURA 2).

Atividade total da enzima SOD

O TF não modificou significativamente ($P = 0,7988$) a atividade total da enzima SOD (FIGURA 3).

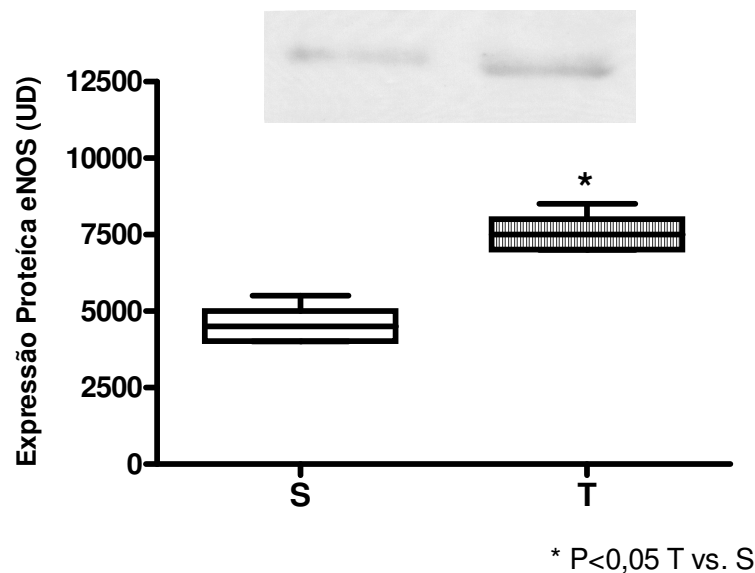


FIGURA 1 - Expressão proteica da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) em aorta torácica de ratos sedentários (S, n = 3) e treinados (T, n = 3).

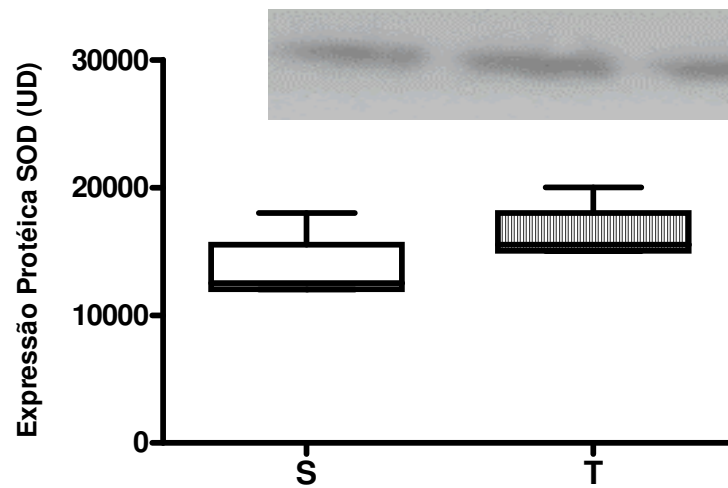


FIGURA 2 - Expressão protéica da enzima superóxido dismutase (SOD) em aorta torácica de ratos sedentários (S, n = 3) e treinados (T, n = 3).

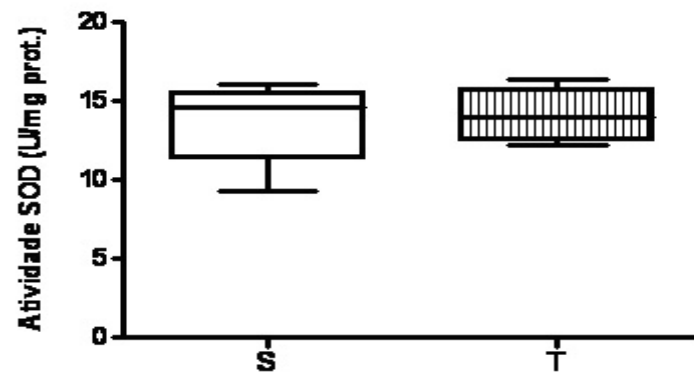


FIGURA 3 - Atividade total da enzima superóxido dismutase (SOD) em aorta torácica de ratos sedentários (S, n = 10) e treinados (T, n = 10).

Função vasomotora aórtica “in vitro”

Resposta vasodilatadora endotélio-dependente

O relaxamento aórtico à ACh (FIGURA 4) foi semelhante entre os grupos S e T, tanto para o % de relaxamento individual ($99 \pm 1,3\%$ vs. $101 \pm 4,0\%$, S vs. T, respectivamente, $P = 0,5181$) como para a EC_{50} ($-7,64 \pm 0,085$ vs. $-7,765 \pm 0,130$ Log [M], S vs. T, respectivamente, $P = 0,4301$).

Resposta vasodilatadora endotélio-independente

O relaxamento aórtico ao NPS (FIGURA 5) não foi significativamente diferente para o % de relaxamento individual entre os grupos S e T ($99 \pm 1,6$ vs. $102 \pm 1,7\%$, S vs. T, respectivamente, $P = 0,1966$). Entretanto, o treinamento físico diminuiu significativamente a EC_{50} ao NPS ($-8,26 \pm 0,081$ vs. $-7,79 \pm 0,099$ Log [M], S vs T, respectivamente, $P < 0,001$).

FIGURAS 4 e 5:
Os dados representam a média \pm EP da % de relaxamento máximo após contração com noradrenalina (10^{-7} M).

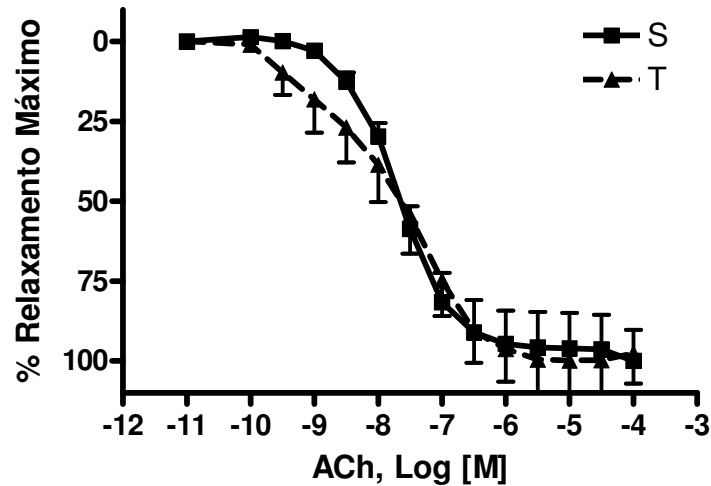


FIGURA 4 - Curva de relaxamento à acetilcolina (ACh) em aorta torácica isolada de ratos sedentários (S, n = 10) e treinados (T, n = 10).

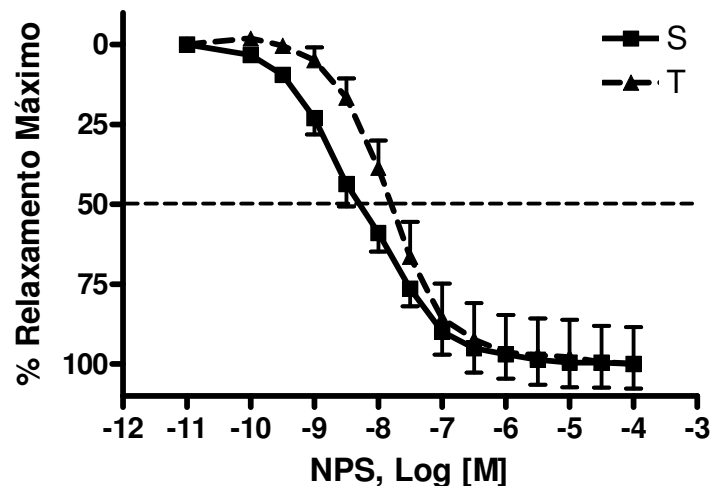


FIGURA 5 - Curva de relaxamento ao nitroprussiato de sódio (NPS) em aorta torácica isolada de ratos sedentários (S, n = 10) e treinados (T, n = 10).

Discussão

O presente estudo demonstrou, em ratos normotensos, que um programa de treinamento físico aeróbico (55% Vel.Max.) aumentou significativamente a expressão da enzima eNOS vascular, importante mecanismo de síntese de óxido nítrico, sem contudo melhorar a resposta vasodilatadora endotélio-dependente em aorta isolada, diferentemente do relatado por outros autores (DELP, 1995; DELP & LAUGHLIN, 1997). Além disso, o treinamento físico aeróbico não modificou significativamente a expressão e atividade da enzima antioxidante SOD.

O treinamento físico aeróbico é um modelo utilizado para se estudar as diversas adaptações vasculares, que ocorrem tanto no âmbito da defesa antioxidante como da biosíntese de óxido nítrico vascular. Entretanto, não está completamente esclarecido os mecanismos pelos quais o TF propicia os diversos benefícios vasculares. Por exemplo, períodos breves de treinamento físico (três semanas) são capazes de aumentar a expressão da enzima eNOS, enquanto períodos mais longos não provocam a mesma adaptação (GREEN, MAIORANA, O'DRISCOLL & TAYLOR, 2004). O aumento da eNOS

parece ser temporal, isto é, adaptações bioquímicas ocorrem precocemente enquanto adaptações morfológicas (remodelamento vascular com aumento do calibre arterial) ocorrem mais tardiamente (GREEN et al., 2004).

Em conjunto, estes resultados sugerem que a melhora da responsividade vasodilatadora aórtica ao treinamento físico pode ser específica a alguns leitos vasculares e ocorrer de maneira temporal, sendo necessário o estudo em outros leitos vasculares bem como diferentes períodos de treinamento físico.

Adicionalmente, o aumento da biosíntese do NO também parece ocorrer de modo diferente em cada leito vascular. Por exemplo, LAUGHLIN, POLLOCK, AMANN, HOLLIS, WOODMAN e PRICE (2001) observaram que os incrementos na expressão da enzima eNOS ao longo da árvore arterial de porcos submetidos ao treinamento físico ocorre de maneira não uniforme. Assim, é possível que outros leitos vasculares, não investigados no presente estudo, possam ter sofrido adaptações diferentes das observadas na aorta.

De qualquer forma, o aumento da expressão da enzima eNOS e a não melhora da resposta vasodilatadora aórtica à ACh, observada no presente estudo, pode estar relacionada à magnitude do aumento da eNOS, o qual pode não ter sido suficiente para incrementar a vasodilatação aórtica. Uma possível explanação para este resultado pode estar relacionado ao fato dos animais sedentários apresentarem resposta vasodilatadora normal, dificultando o efeito de incremento da função vascular.

O aumento da defesa antioxidante vascular tem sido um fenômeno frequentemente relatado em espécies animais submetidas ao treinamento físico aeróbio (RUSH, TURK & LAUGHLIN, 2003). Entretanto, este aumento parece ser específico a algumas isoformas. Por exemplo, FUKAI et al. (2000), observaram em camundongos, que o treinamento físico aeróbio foi capaz de aumentar a expressão da isoforma extracelular da enzima superóxido dismutase (EC-SOD), mas não de sua isoforma intracelular contendo cobre e zinco (SOD-1). Portanto, uma limitação do presente estudo é não ter analisado este efeito em outras isoformas desta enzima, o que não ocorreu devido a falta de material para análise.

Os mecanismos pelos quais o treinamento físico aumenta a expressão da eNOS e a capacidade de defesa antioxidante vascular não são completamente esclarecidos. No entanto, o “shear stress” é um fator que modifica a expressão da SOD e da eNOS. A este respeito, a duração e a intensidade (aumento do fluxo sanguíneo) que os vasos sanguíneos são

expostos pode modificar a expressão destas duas enzimas diferentemente. Por exemplo, em vasos isolados, tanto a enzima eNOS quanto a SOD aumentam as suas expressões quando submetidas a estímulos de fluxo elevado (“shear stress” elevado). Assim, para que ocorra um aumento da expressão da SOD é necessário uma duração do estímulo duas vezes maior àquela capaz de ativar a eNOS (WOODMAN, MULLER, RUSH, LAUGHLIN & PRICE, 1999).

Portanto, é possível que a moderada intensidade e a duração das sessões de treinamento físico utilizadas no presente estudo tenham sido suficientes para aumentar a expressão da eNOS, e insuficientes para aumentar a atividade e expressão da SOD. Estudos de POWERS et al. (1993), demonstraram que é necessário uma intensidade elevada de treinamento físico para induzir aumento da SOD no miocárdio de rato. De modo semelhante, GRAHAM e RUSH (2001) não observaram aumento da SOD-1 e SOD-2 com o treinamento físico em aorta de ratos. Deste modo, é razoável supor que para ocorrer melhora da atividade da SOD aórtica com o treinamento em intensidade moderada, este precisa ter maior duração das sessões diárias e/ou maior período (semanas) de treinamento.

O presente estudo demonstrou, também, que o TF provocou uma diminuição da sensibilidade aórtica ao NPS (doador de óxido nítrico). De maneira semelhante, GRAHAM e RUSH (2001) também observaram uma significativa diminuição da sensibilidade vascular ao NPS em ratos submetidos ao treinamento físico. No entanto, a menor sensibilidade aórtica ao NPS, observada no presente estudo, não parece ser devido a uma diminuição da função do músculo liso vascular, uma vez que os ratos treinados atingiram 100% de relaxamento ao NPS. Além disso, dados ainda não publicados pelo laboratório, demonstraram que o TF aumentou a concentração aórtica de nitrato, indicando um aumento da produção endotelial de nitrato. Deste modo, parece que uma maior disponibilidade endógena de NO basal repercute em uma menor sensibilidade ao NO exógeno. Entretanto, os mecanismos para esta adaptação precisam ser melhor esclarecidos.

Em suma, o treinamento físico aeróbio foi capaz de alterar um dos mecanismos envolvidos na bioatividade do óxido nítrico, marcadamente o aumento da expressão da eNOS. Entretanto, esta modificação não levou à melhora da responsividade vasodilatadora aórtica estimulada pela acetilcolina e provocou menor sensibilidade ao NPS (doador de NO exógeno).

Abstract

Effects of aerobic exercise training upon nitric oxide bioactivity and aorta vasodilatation

Aerobic training (AT) is an important way to improve endothelial function. However, it is not completely understood how the blood vessels adapt themselves to the AT. Therefore, the aim of this study was to investigate exercise training-induced adaptations on the nitric oxide (NO) production, antioxidant defense and aorta vasodilatation in normotensive rats. The rats were subjected to an AT protocol (treadmill, ~55% Max Veloc., 5 bouts/week, 60 min/bout, 11 wks). After the AT, it was examined *in vitro* vasomotor function to acetylcholine (ACh) and sodium nitroprusside (SNP), and biochemical analysis in the aorta. Aerobic training significantly increased ($P < 0.05$) by 62% the expression of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS). However, ET did not modify the relaxation response and sensitivity to ACh. In contrast, AT significantly reduced aortic sensitivity to SNP (-8.26 ± 0.081 vs. -7.79 ± 0.099 Log [M], Sed vs. AT, respectively, $P < 0.001$). These results demonstrate that aerobic AT was able to modify one important mechanism related to the NO bioactivity, which is the increase of eNOS expression. However, this response did not contribute to improve of the aortic vasodilatation response to acetylcholine and decreased the sensitivity to SNP.

UNITERMS: Exercise training; Endothelial function; Aortic relaxation; Nitric oxide; Superoxide dismutase.

Referências

- BAUERSACHS, J.; BOULOUMIÉ, A.; FRACCAROLLO, D.; HU, K.; BUSSE, R.; ERTL, G. Endothelial dysfunction in chronic myocardial infarction despite increased vascular endothelial nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase expression. *Circulation*, Dallas, v.100, p.292-8, 1999.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, New York, v.72, p.248-54, 1976.
- CHERRY, P.D.; FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V.; JOTHIANANDAN, D. Role of endothelial cells in relaxation of isolated arteries by bradykinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v.79, p.2106-10, 1982.
- DELP, M.D. Effects of exercise training on endothelium-dependent peripheral vascular responsiveness. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.27, p.1152-7, 1995.
- DELP, M.D.; LAUGHLIN, M.H. Time course of enhanced endothelium-mediated dilation in aorta of trained rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.29, p.1454-61, 1997.
- FUKAI, T.; SIEGFRIED, M.R.; FUKAI, U.M.; CHENG, Y.; KOJDA, G.; HARRISON, D.G. Regulation of the vascular extra cellular superoxide dismutase by nitric oxide and exercise training. *Journal of Clinical Investigation*, New Haven, v. 105, p.1631-9, 2000.
- FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, London, v.288, p. 373-6, 1980.
- GAVA, N. S.; VÉRAS-SILVA, A.S.; NEGRÃO C.E.; KRIEGER, E.M. Low-intensity exercise training attenuates cardiac b-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, Dallas, v.26, p.1129-33, 1995.
- GOLDSTEIN, S.; CZAPSKI, G. The reaction of NO[•] with O₂⁻ and HO₂⁻: a pulse radiolysis study. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Elmsford, v.19, p.505-10, 1995.
- GRAHAM D.A.; RUSH W.E. Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.96, p.2088-96, 2001.
- GREEN, D.; MAIORANA, A.; O'DRISCOLL, G.; TAYLOR, R. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide functions in humans. *Journal of Physiology*, London, v.561, p.1-25, 2004.
- INOUE, N.; RAMASAMY, S.; FUKAI, T.; NEREM, R.M.; HARRISON, D.G. Shear stress modulates expression of Cu/Zn superoxide dismutase in human aortic endothelial cells. *Circulation Research*, Baltimore, v.79, p.32-7, 1996.

- LANDMESSER, U.; HORNIG, B.; DREXLER, H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? *Circulation*, Dallas, v.109, p.27-33, 2004.
- LAUGHLIN, M.H.; POLLOCK, J.S.; AMANN, J.F.; HOLLIS, M.L.; WOODMAN, C.R.; PRICE, E.M. Training induces nonuniform increases in eNOS content along the coronary arterial tree. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.90, p.501-10, 2001.
- LEITE, P.F.; DANILOVIC, A.; MORIEL P.; DANTAS K.; MARKLUND, S.; DANTAS, A.P.V.; LAURINDO, R.M. Sustained decrease in superoxide dismutase activity underlies constrictive remodeling after balloon injury in rabbits. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, Baltimore, v.23, p.2197-202, 2003.
- MYERS, J. Exercise and cardiovascular health. *Circulation*, Dallas, v. 107, p.e2-e5, 2003.
- POWERS, S.K.; CRISWELL, D.; LAWLER, J.; MARTIN, D.; LIEU, F.K.; JI, L.L ; HERB, R.A. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *American Journal of Physiology*, Washington, v.265, p.H2094-98, 1993.
- RAMIRES, P.R.; JI, L.L. Glutathione supplementation and training increases myocardial resistance to ischemia-reperfusion in vivo. *American Journal of Physiology*, Washington, v.282, p.H679-88, 2001.
- RUSH, J.W.E.; TURK, J.R.; LAUGHLIN, M.H. Exercise training regulates SOD-1 and oxidative stress in porcine aortic endothelium. *American Journal of Physiology*, Washington, v.284, p.H1378-87, 2003.
- SCHASCHINGER, V.; BRITTEN, M.B.; ZEIHNER, A.M. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation*, Dallas, v.25, p.1899-906, 2000.
- SHEPHERD, D.; GARLAND, P.B. The kinetic properties of citrate synthase from rat liver mitochondria. *The Biochemical Journal*, London, v.114, p.597-610, 1969.
- WOODMAN, C.R.; MULLER, J.M.; RUSH, J. W.E.; LAUGHLIN M.H.; PRICE, M.E. Flow regulation of ecNOS and Cu/Zn SOD mRNA expression in porcine coronary arterioles. *American Journal of Physiology*, Washington, v.276, p.H1058-63, 1999.
- WISLOFF U.; NAJJAR, S.M.; ELLINGSEN O.; HARAM P.M.; SWOAP S.; AL-SHARE Q.; FERNSTRO, M.; REZAEI, K.; LEE, S.J.; KOCH, L.G.; BRITTON S.L. Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity. *Science*, Washington, v.307, p.418-20, 2005.

Agradecimentos

Os autores agradecem o Prof. Dr. Francisco R. M. Laurindo pelo apoio científico e permitir a utilização do Laboratório de Biologia Vascular do InCor-HC, FMUSP para a realização dos procedimentos experimentais.

ENDEREÇO
 Paulo Rizzo Ramires
 Escola de Educação Física e Esporte - USP
 Av. Prof. Mello Moraes, 65
 05508-030 - São Paulo - SP - BRASIL
 e-mail: ramires@usp.br

Recebido para publicação: 27/01/2006
 Revisado: 31/01/2007
 Aceito: 17/05/2007