

Rafael Amorim Belo Nunes

Resposta cardiovascular ao teste ergométrico e a capacidade vasodilatadora periférica quanto a polimorfismos genéticos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial e dos receptores alfa-adrenérgicos

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa: Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. Alfredo José Mansur

**São Paulo
2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Nunes, Rafael Amorim Belo

Resposta cardiovascular ao teste ergométrico e a capacidade vasodilatadora periférica quanto a polimorfismos genéticos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial e dos receptores alfa-adrenérgicos / Rafael Amorim Belo Nunes. -- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.

Orientador: Alfredo José Mansur.

Descritores: 1.Exercício/fisiologia 2.Teste de esforço 3.Antebraço/irrigação sanguínea 4.Vasodilatação 5.Polimorfismo genético 6.Receptores adrenérgico alfa 7.Óxido nítrico sintase tipo III 8.Receptor B2 de bradicinina

USP/FM/DBD-419/13

Dedicatória

Aos meus pais Olga e Francisco, sua dedicação e esforço sempre estimularam o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

À Monica e meus filhos Henrique e Gabriela, alegria que mesmo nos momentos mais difíceis me amparou a seguir em frente.

Aos meus irmãos Priscila e Guilherme, companheiros de todos os momentos e de toda a vida.

Agradecimientos

Ao Prof. Alfredo José Mansur, pelo estímulo a entrever na prática médica o olhar científico atento e sensível às perguntas do dia a dia.

Aos colegas da Unidade Clínica de Ambulatório Geral do Instituto do Coração – Alice T. Yamada, Ana Cristina M. Andrade, Fernando Araújo, Ernani S. Grell, Gustavo F. Correia, Humberto F. Freitas, Ivana Antelmi, Marcos R. Cuoco, Paulo R. Polo, Rogério S. Paula - pelo convívio cotidiano estimulante, voltado para desenvolver as dimensões de ensino e pesquisa a partir da responsabilidade institucional de assistência aos pacientes.

Ao Laboratório de Cardiologia Molecular do Instituto do Coração, nas pessoas do Prof. José Eduardo Krieger, Dr. Alexandre C. Pereira, biólogos Paulo Caleb e Théo G. M. Oliveira e equipe, pela enriquecedora colaboração que permitiu conciliar atividade clínica e pesquisa de laboratório.

Ao Serviço de Reabilitação do Instituto do Coração, nas pessoas do Prof. Carlos Eduardo Negrão, Prof^a. Maria Urbana P. B. Rondon e equipe, pela contínua colaboração que permitiu o desenvolvimento deste estudo.

Ao Centro de Estatística Aplicada do Instituto de Matemática e Estatística da USP, nas pessoas da Prof^a. Lúcia Pereira Barroso e equipe, por sua competência, empenho e disponibilidade na análise estatística.

À Sra. Sandra Miranda Souza, assistente administrativa da Unidade, pela contribuição cotidiana na nossa atividade.

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*

Sumário

	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
	LISTA DE TABELAS	
	LISTA DE FIGURAS	
	RESUMO	
	SUMMARY	
1	INTRODUÇÃO	01
1.1	O exercício e a vasodilatação periférica.....	03
1.2	A vasodilatação periférica e os polimorfismos genéticos.....	05
1.2.1	Sistema do óxido nítrico endotelial.....	05
1.2.2	Receptores alfa-adrenérgicos.....	06
1.2.3	Receptor B2 da bradicinina.....	08
1.3	O exercício e os polimorfismos genéticos.....	08
2	HIPÓTESE	10
3	OBJETIVOS	12
4	MÉTODOS	14
4.1	Participantes.....	15
4.2	Avaliação médica cardiológica.....	15
4.3	Critérios de inclusão.....	15
4.4	Critérios exclusão.....	15
4.5	Cálculo do tamanho da amostra.....	16
4.6	Resposta cardiovascular ao teste ergométrico.....	16
4.7	Capacidade vasodilatadora periférica.....	17
4.7.1	Estudos da Vasodilatação Periférica.....	17
4.7.2	Protocolo utilizado no estudo.....	18
4.8	Determinação dos polimorfismos genéticos.....	20
4.9	Polimorfismos genéticos estudados.....	24
4.10	Variáveis de controle.....	25
4.11	Análise estatística.....	25
4.12	Aspectos éticos.....	27
5	RESULTADOS	28
5.1	Características da amostra estudada.....	29
5.2	Distribuição alélica dos polimorfismos estudados.....	31

5.3	Resposta cardiovascular ao teste ergométrico.....	35
5.4	Resposta do fluxo sanguíneo muscular do antebraço e da condutância vascular.....	37
5.5	Associações entre as respostas do teste ergométrico, vasodilatação muscular do antebraço e variáveis clínicas e laboratoriais.....	38
5.6	O teste ergométrico e os polimorfismos genéticos dos receptores alfa-adrenérgicos.....	44
5.7	O teste ergométrico e os polimorfismos da enzima sintetase do óxido nítricoendotelial.....	47
5.8	O teste ergométrico e o polimorfismo do receptor B2 da bradicinina.....	49
5.9	A vasodilatação periférica e os polimorfismos genéticos.....	50
6	DISCUSSÃO	54
6.1	Resposta cardiovascular ao teste ergométrico e a vasodilatação periférica.....	55
6.2	Resposta cardiovascular ao teste ergométrico e os polimorfismos genéticos.....	56
6.3	Análise do impacto dos polimorfismos genéticos na resposta cardiovascular ao teste ergométrico.....	59
6.4	A capacidade vasodilatadora periférica e os polimorfismos genéticos.....	60
6.5	Limitações do estudo.....	62
7	CONCLUSÕES	64
8	ANEXOS	66
9	REFERÊNCIAS	79

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

eNOS:	Sintetase do óxido nítrico endotelial
cNOS:	Sintetase do óxido nítrico forma constitutiva
iNOS:	Sintetase do óxido nítrico forma induzida
nNOS:	Sintetase do óxido nítrico forma neuronal
ADRA:	gene do receptor alfa-adrenérgico
VFM:	Vasodilatação fluxo-mediada
PAI-1:	Inibidor do ativador de plasminogênio
ADMA:	Dimetilarginina assimétrica
BH4:	6R-tetrahidrobiopterina
L-NMMA:	N ^G -monometil –L-arginina
FC:	Frequência Cardíaca
PAS:	Pressão arterial sistólica
PAD:	Pressão arterial diastólica
RFC:	Recuperação da frequência cardíaca
RPAS:	Recuperação da pressão arterial sistólica
FSMA:	Fluxo sanguíneo muscular do antebraço
PAM:	Pressão arterial média
CVA:	Condutância vascular do antebraço
NCBI:	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NLM:	<i>National Library of Medicine</i>
NIH:	<i>National Institutes of Health</i>
SNP:	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
PCR:	<i>Polymerase chain reaction</i>
HRM:	High resolution melting

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Temperaturas dos <i>primers</i> submetidos ao PCR-gradiente.....	22
Tabela 2.	Polimorfismos genéticos propostos no estudo.....	25
Tabela 3.	Características antropométricas, clínicas e laboratoriais da amostra estudada.....	29
Tabela 4.	Comparação das médias das variáveis principais contínuas por sexo.....	30
Tabela 5.	Distribuição dos polimorfismos genéticos.....	32
Tabela 6.	Distribuições dos genótipos para os polimorfismos genéticos estudados e as respectivas distribuições esperada para cada polimorfismo conforme Equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	33
Tabela 7.	Coeficientes de associação entre os polimorfismos estudados.....	33
Tabela 8.	Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo ADRA1A Arg347Cys em relação à etnia.....	34
Tabela 9.	Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo ADRA2A 1780 C>T em relação à etnia.....	34
Tabela 10.	Frequências absolutas e relativas (%) dos genótipos do polimorfismo ADRA2B DEL301-303 em relação à etnia.....	34
Tabela 11.	Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo eNOS 786 T>C em relação à etnia.....	35
Tabela 12.	Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo eNOS Glu298Asp em relação à etnia.....	35
Tabela 13.	Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo BK2R em relação à etnia.....	35
Tabela 14.	Resposta cardiovascular ao teste ergométrico dos participantes do estudo.....	36
Tabela 15.	Resposta cardiovascular ao teste ergométrico quanto ao sexo.....	37
Tabela 16.	Resposta da pressão arterial, frequência cardíaca, fluxo sanguíneo muscular do antebraço e condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico.....	38
Tabela 17.	Fluxo sanguíneo muscular do antebraço e condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico em homens e mulheres.....	38
Tabela 18.	Coeficientes de correlação entre variáveis do teste ergométrico e variáveis da vasodilatação do antebraço para o sexo masculino.....	39

Tabela 19.	Coeficientes de correlação entre as variáveis do teste ergométrico e as variáveis da vasodilatação do antebraço para o sexo feminino.....	39
Tabela 20.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para a capacidade de exercício para o sexo feminino.....	41
Tabela 21.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para capacidade de exercício para o sexo masculino.....	41
Tabela 22.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para reserva cronotrópica para o sexo feminino.....	41
Tabela 23.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para reserva cronotrópica para o sexo masculino.....	42
Tabela 24.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para pressão arterial diastólica máxima para o sexo feminino.....	42
Tabela 25.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para pressão arterial diastólica máxima para o sexo masculino.....	42
Tabela 26.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para pressão arterial sistólica máxima para o sexo feminino.....	43
Tabela 27.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para pressão arterial máxima para o sexo masculino.....	43
Tabela 28.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para recuperação da pressão arterial sistólica para ambos os sexos.....	43
Tabela 29.	Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para recuperação da frequência cardíaca para ambos os sexos.....	44
Tabela 30.	Associações entre o polimorfismo do gene ADRA1A Arg347Cys e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada.....	45
Tabela 31.	Associações entre o polimorfismo do gene ADRA2A 1780 C>T e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada.....	46
Tabela 32.	Associações entre o polimorfismo do gene ADRA2B DEL301-303 e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada.....	47
Tabela 33.	Associações entre o polimorfismo do gene eNOS 786 T>C e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada.....	48
Tabela 34.	Associações entre o polimorfismo do gene eNOS Glu298Asp e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada.....	49
Tabela 35.	Associações entre o polimorfismo do gene BK2R e variáveis do	50

	teste ergométrico na análise multivariada.....	
Tabela 36.	Estimativa das associações entre o genótipo eNOS 786 T>C e o aumento da condutância vascular e do fluxo sanguíneo muscular do antebraço durante o exercício isométrico no sexo feminino.....	53
Tabela 37.	Estimativa das associações entre o genótipo ADRA2A 1780 C>T e o aumento da condutância vascular e do fluxo sanguíneo muscular do antebraço durante o exercício isométrico no sexo masculino.....	53

Lista de Figuras

Figura 1. Medida do fluxo sanguíneo muscular do antebraço pela técnica de pletismografia de oclusão venosa.....	19
Figura 2. Protocolo de avaliação do fluxo sanguíneo muscular (FSM) do antebraço durante o exercício isométrico.....	20
Figura 3. Exemplo de sequência FASTA disponível no banco de dados do site NCBI.....	21
Figura 4. Eletroforese de PCR-gradiente.....	23
Figura 5. Curvas esboçadas pelo software Rotor-Gene6000®.....	24
Figura 6. Variações da condutância vascular do antebraço (Δ CVA) durante 3 minutos de exercício isométrico para os genótipos do polimorfismo da eNOS 786 T>C em mulheres e homens.....	51
Figura 7. Variações da condutância vascular do antebraço (Δ CVA) durante 3 minutos de exercício isométrico para os genótipos do polimorfismo ADRA2A 1780 C>T em mulheres e homens.....	51

Resumo

Nunes RAB. **Resposta cardiovascular ao teste ergométrico e a capacidade vasodilatadora periférica quanto a polimorfismos genéticos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial e dos receptores alfa-adrenérgicos** [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

Introdução: O desempenho cardiovascular durante o teste ergométrico varia entre indivíduos sem doença cardiovascular estabelecida. As variáveis que influenciam estas diferenças interindividuais na resposta ao exercício podem estar associadas à saúde cardiovascular. Formulamos a hipótese de que a resposta cardiovascular ao teste ergométrico possa variar quanto à capacidade de vasodilatação periférica e que ambas possam ser influenciadas por polimorfismos genéticos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial, dos receptores alfa-adrenérgicos e do receptor B2 da bradicinina. **Objetivos:** 1 - Estudar as associações entre variáveis da resposta cardiovascular ao teste ergométrico e a vasodilatação muscular do antebraço em homens e mulheres sem doença cardiovascular estabelecida; 2 - Estudar as associações de variáveis da resposta cardiovascular ao teste ergométrico e da vasodilatação muscular do antebraço com polimorfismos genéticos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial, dos receptores alfa-adrenérgicos e do receptor B2 da bradicinina. **Métodos:** Seiscentos e oitenta e nove indivíduos de ambos os sexos, sem doença cardiovascular estabelecida, submetidos à avaliação médica cardiológica. O teste ergométrico foi realizado em esteira rolante e limitado por sintomas. A resposta cardiovascular ao teste ergométrico foi representada pelas seguintes variáveis: capacidade de exercício, reserva cronotrópica, recuperação da frequência cardíaca, pressão arterial sistólica máxima, pressão arterial diastólica máxima e recuperação da pressão arterial sistólica. A capacidade vasodilatadora periférica foi estimada pela resposta da condutância vascular do antebraço ao exercício isométrico (área total sobre a curva e variação dos valores absolutos durante 3 minutos de exercício em relação ao basal) durante o exame de pletismografia de oclusão venosa. Os polimorfismos genéticos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial (eNOS) 786T>C (rs2070744) e Glu298Asp (rs1799983), dos receptores alfa₁A-adrenérgico (ADRA1A) Arg347Cys (rs1048101), alfa₂A-adrenérgico (ADRA2A) 1780 C>T (rs553668), alfa₂B-adrenérgico (ADRA2B) Ins/Del 301-303 (rs28365031) e do receptor B2 da bradicinina BK2R (rs5810761) foram genotipados por meio da técnica de *High Resolution Melting*. Modelos de regressão linear múltipla e modelos mistos estratificados para homens e mulheres foram utilizados na análise estatística. **Resultados:** As variáveis do teste ergométrico não se associaram ao aumento da condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico. O polimorfismo ADRA1A Arg347Cys associou-se com a pressão arterial sistólica máxima no sexo masculino (P = 0,049), o polimorfismo ADRA2A 1780 C>T associou-se à pressão arterial diastólica máxima no sexo masculino (P = 0,049) e à pressão arterial sistólica máxima em ambos os sexos (P = 0,009 nas mulheres, P = 0,022 nos homens), o polimorfismo ADRA2B Del 301-303 associou-se à pressão arterial sistólica máxima (P = 0,005) e à

pressão arterial diastólica máxima ($P = 0,043$) no sexo feminino, e à recuperação da frequência cardíaca no sexo masculino ($P = 0,041$). A resposta da condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico associou-se ao polimorfismo eNOS 786T>C no sexo feminino ($P = 0,043$) e ao polimorfismo ADRA2A 1780 C>T no sexo masculino ($P = 0,025$). **Conclusão:** A resposta cardiovascular ao teste ergométrico não se associou à capacidade vasodilatadora periférica em indivíduos sem doença cardiovascular estabelecida. Em relação à resposta cardiovascular ao teste ergométrico, o polimorfismo ADRA1A Arg347Cys influenciou a pressão arterial sistólica máxima no sexo masculino; o polimorfismo ADRA2A 1780 C>T influenciou a pressão arterial sistólica máxima em ambos os sexos e a pressão arterial diastólica máxima no sexo masculino; o polimorfismo ADRA2B Del 301-303 influenciou a pressão arterial sistólica máxima e a pressão arterial diastólica máxima no sexo feminino e a recuperação da frequência cardíaca no sexo masculino. A vasodilatação muscular do antebraço ao exercício isométrico foi influenciada pelos polimorfismos eNOS 786 T>C no sexo feminino e ADRA2A 1780 C>T no sexo masculino. Estes dados sugerem que polimorfismos genéticos associados aos receptores alfa-adrenérgicos e à enzima sintetase do óxido nítrico endotelial possam modular a resposta cardiovascular ao exercício e a capacidade vasodilatadora periférica. Variantes dos genes dos receptores alfa-adrenérgicos, em especial, parecem ser potenciais marcadores da resposta da pressão arterial durante o exercício.

Descritores: Exercício/fisiologia; Teste de esforço. Antebraço/irrigação sanguínea; Vasodilatação; Polimorfismo genético; Receptores adrenérgico alfa; Óxido nítrico sintase tipo III; Receptor B2 de bradicinina

Summary

Nunes RAB. **Cardiovascular responses during treadmill exercise test, peripheral vasodilatation and genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase and alpha-adrenergic receptors** [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

Purpose: The cardiovascular performance during exercise stress test may vary among individuals without overt cardiovascular disease. The variables associated with this variability between apparently healthy individuals may also influence the cardiovascular health. We hypothesized that cardiovascular responses during exercise stress test may vary according the peripheral vasodilator capacity and that both pathways may be influenced by genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase, alpha-adrenergic receptors and type B2 bradykinin receptor.

Aim: 1- to study associations between the cardiovascular responses during exercise stress test and forearm muscle vasodilation in men and women without overt cardiovascular disease. 2- to study the influence of genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase, alpha adrenergic receptors and type B2 bradykinin receptor on the exercise test responses and forearm muscle vasodilation.

Methods: Six hundred eighty nine individuals of both sexes, without overt cardiovascular disease, that underwent a cardiovascular check-up. The cardiovascular performance during exercise stress test was estimated by the following variables: exercise capacity, chronotropic reserve, heart-rate recovery, exercise systolic blood pressure, exercise diastolic blood pressure and systolic blood pressure recovery. The peripheral vasodilator capacity was estimated by forearm vascular conductance response to handgrip exercise (area under the curve and absolute changes during the 3-minute handgrip exercise) during venous occlusion plethysmography. The genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) 786T>C (rs2070744) and Glu298Asp (rs1799983), of adrenoceptors alpha₁A (ADRA1A) Arg347Cys (rs1048101), alpha₂A (ADRA2A) 1780 C>T (rs553668), alpha₂B (ADRA2B) Ins/Del 301-303 (rs28365031) and of type B2 bradykinin receptor (rs5810761) were genotyped with High Resolution Melting. The statistical analysis was performed with multiple linear regression and linear mixed models for men and women.

Results: Exercise test variables were not associated with forearm vascular conductance increase during handgrip exercise. The ADRA1A Arg347Cys was associated with exercise systolic blood pressure in men (P = 0.049), the ADRA2A 1780 C>T was associated with exercise diastolic blood pressure in men (P = 0.049) and with exercise systolic blood pressure in both sexes (P = 0.009 for women, P = 0,022 for men), the ADRA2B Del 301-303 was associated with exercise systolic blood pressure (P = 0.005) and exercise diastolic blood pressure (0.043) in women, and with heart-rate recovery in men (P = 0.041). The forearm vascular conductance changes during handgrip exercise were associated with eNOS 786 T>C in women (P = 0.043) and with ADRA2A 1780 C>T in men (P = 0.025).

Conclusions: The cardiovascular responses during treadmill exercise test were not associated with peripheral vasodilatory capacity in individuals without overt heart disease. The ADRA1A

Arg347Cys polymorphism influenced exercise systolic blood pressure in men; the ADRA2A 1780 C>T polymorphism influenced exercise systolic blood pressure in both sexes and exercise diastolic blood pressure in men; and the ADRA2B Del 301-303 polymorphism influenced exercise systolic and diastolic blood pressures in women and heart-rate recovery in men. The exercise-induced muscle vasodilatation was influenced by the eNOS polymorphism 786 T>C in women and ADRA2A polymorphism 1780 C>T in men. These findings suggest that polymorphisms of genes coding alpha adrenergic receptors and endothelial nitric oxide synthase may play a role on the modulation of cardiovascular responses to exercise and peripheral vasodilatation. Particularly, genetic polymorphisms of alpha-adrenergic receptors appear to be potential markers of blood pressure response during exercise.

Descriptors: Exercise/physiology; Exercise test; Forearm/blood supply; Vasodilation; Polymorphism, Genetic; Alpha-adrenergic receptor; Nitric oxide synthase type III; Receptor, bradykinin B2

1 Introdução

O teste ergométrico é uma ferramenta de avaliação funcional, diagnóstica e prognóstica com ampla aplicação prática [Erikssen *et al.*, 2004; Albers *et al.*, 2006]. Variáveis além do segmento ST como a capacidade de exercício, a pressão arterial e a frequência cardíaca durante e depois do exercício estão associadas a eventos como desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica [Singh *et al.*, 1999; Miyai *et al.*, 2002], infarto do miocárdio, morte súbita [Jouven *et al.*, 2005] e mortalidade em indivíduos com e sem doença cardiovascular estabelecida [Cole *et al.*, 1999; Lauer *et al.*, 1996; Jouven *et al.*, 2000; Kurl *et al.*, 2001; Myers *et al.*, 2002; Morsheid-Meibodi *et al.*, 2002; Mora *et al.*, 2003; Aktas *et al.*, 2004; Kokkinos *et al.*, 2010].

Os fatores causais relacionados ao aumento do risco cardiovascular em indivíduos com resposta desfavorável ao teste ergométrico não estão bem estabelecidos, e podem envolver complexas relações entre os sistemas cardíaco, circulatório e neuro-humoral. Neste contexto, alguns estudos sugeriram que a integridade do sistema circulatório e a vasodilatação periférica possam influenciar o desempenho cardiovascular durante o exercício [Kuvin *et al.*, 2001; Bussière *et al.*, 2002; Chang *et al.*, 2004; Aldo Ferrara *et al.*, 2006].

A regulação da função cardiovascular é mediada por fatores ambientais e genéticos [Nieminen *et al.*, 2006]. Associações de variantes genéticas com hipertensão arterial sistêmica [Lockette *et al.*, 1995; Svetkey *et al.*, 1996; Lacolley *et al.*, 1998; Zhu *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2007], disfunção da função endotelial [Heinonen *et al.*, 2002] e síndromes coronarianas agudas [Snapir *et al.*, 2001; Snapir *et al.*, 2003] foram demonstradas em estudos prévios. Dados sobre a potencial modulação genética de respostas fisiológicas ao exercício podem contribuir para um melhor entendimento do controle e adaptação cardiovascular durante o exercício. Polimorfismos genéticos dos receptores alfa-adrenérgicos, da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial (eNOS) e do receptor B2 da bradicinina são candidatos no estudo da resposta cardiovascular ao teste ergométrico, assim como da vasodilatação periférica ao exercício.

1.1. O Exercício e a Vasodilatação Periférica

A realização eficaz do exercício é complexa e depende da integração entre diversos sistemas, entre eles, a circulação periférica e central. O aumento do fluxo sanguíneo associado à contração da musculatura esquelética foi descrito inicialmente pelo fisiologista inglês Walter H. Gaskell em 1878 [Gaskell, 1878] e desde então inúmeros trabalhos procuraram elucidar as possíveis vias implicadas neste fenômeno. Substâncias vasodilatadoras liberadas pelo endotélio, metabólitos musculares, modulação autonômica e a contração da musculatura esquelética podem contribuir para a vasodilatação induzida pelo exercício [Saltin, 2007; Sarelius e Pohl, 2010].

A capacidade de exercício durante o teste ergométrico é predominantemente atribuída a fatores centrais como a função cardíaca e a capacidade pulmonar. Entretanto, a correlação entre a capacidade de exercício e medidas da função cardíaca como a fração de ejeção do ventrículo esquerdo e medidas hemodinâmicas centrais são baixas, o que suscita um possível papel de fatores periféricos sobre o desempenho cardiovascular durante o exercício [Franciosa *et al.*, 1981, Patel *et al.*, 2003].

A estimulação de vias fisiológicas ligadas ao sistema vascular pode integrar a função cardiovascular durante exercício com fatores periféricos como a vasodilatação da musculatura esquelética [Di Francescomarino *et al.*, 2009]. O óxido nítrico endotelial, os tônus simpático e parassimpático e a relação entre vasodilatadores e vasoconstritores endógenos como a bradicinina e o angiotensinogênio II podem influenciar respostas fisiológicas durante o exercício e contribuir para diferenças interindividuais durante o esforço físico [Luger *et al.*, 1988; Niebauer *et al.*, 1996; Freeman *et al.*, 2006].

Estudos que exploraram a relação entre o exercício e a vasodilatação periférica utilizaram predominantemente a vasodilatação pós-isquemia do membro estudado, denominada vasodilatação fluxo-mediada (VFM), como marcador da reatividade vascular.

A pressão arterial sistólica máxima durante o esforço correlacionou-se inversamente à vasodilatação fluxo-mediada em um estudo com homens

aparentemente saudáveis [Aldo Ferrara *et al.*, 2006]. Em outro estudo, a vasodilatação fluxo-mediada foi menor em pacientes com hipertensão sistólica induzida pelo exercício quando comparados a indivíduos com uma resposta normal [Chang *et al.*, 2004]. Estes estudos sugeriram um possível impacto da vasodilatação periférica sobre a resposta hemodinâmica durante o exercício.

A capacidade de exercício ao teste ergométrico associou-se à vasodilatação fluxo-mediada em pacientes submetidos à investigação de coronariopatia obstrutiva [Kuvin *et al.*, 2001; Patel *et al.*, 2005], em indivíduos aparentemente saudáveis [Palmieri *et al.*, 2005] e em fumantes [Heffernan *et al.*, 2009]. Em pacientes submetidos ao teste ergométrico durante avaliação cardiológica, a presença de incompetência cronotrópica definida como um índice cronotrópico inferior a 0,8 durante o esforço associou-se à menor vasodilatação periférica [Huang *et al.*, 2006].

Nas últimas décadas cresceu o número de evidências que demonstram uma forte associação entre anormalidades da função nervosa autonômica e o risco de morte por causas cardiovasculares. O termo desequilíbrio autonômico é utilizado para indicar uma redução relativa ou absoluta da atividade vagal, e/ou um aumento da atividade simpática. A redução do tônus parassimpático ou o aumento do tônus simpático, avaliados por diferentes métodos, como a sensibilidade dos baroflexos, a variabilidade da frequência cardíaca, a turbulência da frequência cardíaca e a recuperação da frequência cardíaca após o teste ergométrico foram associados a um risco cardiovascular aumentado [Jouven *et al.*, 2005]. Durante o exercício, o aumento da frequência cardíaca é dependente do aumento da atividade simpática e redução do tônus vagal [Imai *et al.*, 1994]. Na fase da recuperação, há reativação do estímulo vagal e redução do tônus simpático [Cole *et al.*, 1999].

Estudos prévios demonstraram associações entre o sistema nervoso autonômico e a função endotelial [Sanders *et al.*, 1989; Lepori *et al.*, 2001]. O aumento do tônus simpático e a redução do tônus vagal influenciam a função endotelial, reduzindo a capacidade vasodilatadora periférica [Ghiadoni *et al.*, 2000; Hijmering *et al.*, 2002]. Dois estudos mostraram associações divergentes entre a

recuperação da frequência cardíaca após o exercício e a vasodilatação periférica. Huang e colaboradores demonstraram, em pacientes em investigação de doença arterial coronariana, que indivíduos com menor vasodilatação fluxo-mediada apresentam também menor recuperação da frequência cardíaca após o esforço, mas a mesma resposta não foi observada quanto à vasodilatação induzida pela nitroglicerina [Huang *et al.*, 2004]. Em outro estudo com indivíduos aparentemente saudáveis, encontrou-se uma correlação inversa entre a recuperação da frequência cardíaca e a vasodilatação induzida pela nitroglicerina e ausência de associação com a vasodilatação fluxo-mediada [Girod *et al.*, 2005]. Estes dados suscitam uma interação entre o tônus autonômico e a vasodilatação periférica, mas que pode diferir em relação às características da população estudada, assim quanto aos métodos de vasodilatação empregados.

1.2. A Vasodilatação Periférica e os Polimorfismos Genéticos

1.2.1. Óxido Nítrico Endotelial

O óxido nítrico endotelial é uma molécula gasosa sintetizada a partir do aminoácido L-arginina em reação enzimática modulada pela enzima sintetase do óxido nítrico endotelial (eNOS). O óxido nítrico é um radical livre altamente reativo com inúmeros efeitos biológicos. No endotélio, o óxido nítrico participa de respostas fisiológicas como o relaxamento dos músculos lisos vasculares e a vasodilatação [Dias e col., 2011]. O óxido nítrico endotelial também possui importantes propriedades antitrombóticas e antiinflamatórias, inibindo a adesão de leucócitos, limitando a adesão e agregação plaquetária e a expressão do inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI-1), uma proteína pró-trombótica. Em animais de experimentação, a inibição da produção do óxido nítrico endotelial acelera a formação de placas ateroscleróticas, enquanto que o tratamento com L-arginina reduz sua evolução [Landmesser *et al.*, 2004]. A redução da biodisponibilidade do óxido nítrico está associada a doenças cardiovasculares e é causada por fatores como a expressão reduzida da eNOS, aumento da geração de diimetilarginina assimétrica, um inibidor endógeno da eNOS (ADMA), redução da

biodisponibilidade da 6R-tetrahydrobiopterina (BH4; um cofator essencial da eNOS) e aumento da inativação do óxido nítrico pelas espécies reativas de oxigênio como o superóxido (O₂⁻).

As sintetases do óxido nítrico são uma família de enzimas que catalisam a produção de óxido nítrico. Existem três isoformas conhecidas da NOS, sendo duas formas constitutivas (cNOS) e uma forma induzida (iNOS) [Alderton *et al.*, 2001]. As isoformas de mecanismo constitutivos são a eNOS e a sintetase do óxido nítrico neuronal (nNOS). A forma induzida é expressa em situações fisiopatológicas, como na insuficiência cardíaca congestiva e sepse grave, após a indução de citocinas e outros agentes inflamatórios, levando a um aumento importante na produção de óxido nítrico [Alderton *et al.*, 2001]. Estas isoformas dividem 50-60% da sequência de aminoácidos nos domínios oxidase e redutase [Dias *et al.*, 2011].

O gene da eNOS, localizado no *locus* 7q35-36, foi foco de pesquisas sobre polimorfismos e mutações candidatas a influenciar a expressão e atividade desta enzima. Estudos do polimorfismo genético -786 T>C promoter, associado à menor expressão do gene da eNOS, mostraram uma relação inconsistente com medidas funcionais da função endotelial e com eventos cardiovasculares. Estudos do alelo Asp do polimorfismo genético da eNOS Glu298Asp, possivelmente associado à redução da produção de óxido nítrico, também demonstraram resultados controversos quanto à sua funcionalidade e relação com a reatividade vascular e eventos cardiovasculares [Jones *et al.*, 2005].

1.2.2. Receptores alfa-adrenérgicos

O sistema autonômico está intimamente ligado ao controle da função cardiovascular [Lohse, 2004]. Os receptores alfa1 e alfa2-adrenérgicos (alfa₁A, alfa₁B, alfa₁D, alfa₂A, alfa₂B e alfa₂C) agem através de sua ligação com catecolaminas endógenas e dividem em comum uma classe de proteínas G.

Dentre os três subtipos de receptores adrenérgicos alfa1 conhecidos, o receptor alfa₁A é o subtipo predominante no coração e na vasculatura e contribui significativamente com a regulação simpática da pressão arterial sistêmica e da

resistência vascular periférica [Guimarães e Moura, 2001; Tanoue *et al.*, 2002]. O alelo 347Cys da variante Arg347Cys do receptor alfa₁A associou-se à menor prevalência de hipertensão arterial na população chinesa [Gu *et al.*, 2006a] e à melhor resposta ao tratamento anti-hipertensivo com ibesartana, um antagonista do receptor de angiotensina II tipo I [Jiang *et al.*, 2005]. De forma oposta, um estudo transversal com mais 1500 brasileiros mostrou uma associação modesta entre o alelo 347Cys e o aumento da pressão arterial diastólica em indivíduos com menos de 45 anos e em indivíduos que realizavam atividade física regular [Freitas *et al.*, 2008]. Estes achados conflitantes indicam que o polimorfismo Arg347Cys possa modular de forma diferente a regulação cardiovascular conforme distintas condições étnicas e ambientais.

Os receptores adrenérgicos alfa₂ são importantes reguladores do tônus simpático e parassimpático, da liberação de neurotransmissores, da pressão arterial sistêmica e da lipólise no tecido gorduroso. Os receptores alfa₂B se acoplam via terceira alça intracelular às proteínas G_{i/o} que inibem o AMP cíclico e canais de cálcio e ativam os canais de potássio celulares [Kirstein e Insel, 2004]. Os subtipos alfa₂A e alfa₂C são receptores pré-sinápticos com papel modulador na contra-regulação da norepinefrina liberada pelos nervos simpáticos [Matsunaga *et al.*, 2007]. Os receptores alfa₂B têm ação predominantemente pós-sináptica, modulando o tônus vascular e vasoconstrição periférica [Snapir *et al.*, 2001].

No receptor adrenérgico alfa₂A, o polimorfismo genético Asn251Lys da terceira alça intracelular associou-se à função do receptor, interferindo no acoplamento agonista-mediado da proteína G_i [Small *et al.*, 2000]. Outro polimorfismo do gene ADRA2A, C1291G, localizado na região 5'UTR influenciou os níveis plasmáticos de glicose e níveis salivares de cortisol em uma população de homens caucasianos, o que pode suscitar possível papel deste polimorfismo na regulação do receptor sobre respostas fisiológicas [Rosmond *et al.*, 2002]. O polimorfismo 1780 C>T da região não codificadora 3' UTR do gene ADRA2A associou-se em estudos prévios a variáveis cardiovasculares como hipertensão arterial sistêmica [Lockette *et al.*, 1995], agregabilidade plaquetária [Freeman *et al.*, 1995] e resposta autonômica ao estresse [Finley *et al.*, 2004]. O polimorfismo de

deleção do receptor alfa₂B Ins/Del 301-303 associou-se a eventos cardiovasculares [Snapir *et al.*, 2001; Snapir *et al.*, 2003] e à redução da vasodilatação fluxo-mediada em homens de meia-idade [Heinonen *et al.*, 2002].

1.2.3. Receptor B2 da Bradicinina

O nonapeptídeo bradicinina possui inúmeras funções fisiológicas, incluindo um papel regulador na contração da musculatura lisa vascular, proliferação celular, permeabilidade vascular e, conseqüentemente, na vasodilatação periférica. O receptor B2 da bradicinina parece desempenhar um importante papel na regulação e modulação dos fenômenos biológicos associados à bradicinina [Burch *et al.* 1992] O gene do receptor B2 da bradicinina é um candidato na modulação genética de doenças crônicas como hipertensão arterial sistêmica e doença isquêmica cardíaca, e variantes genéticas neste gene foram previamente identificadas [Braun *et al.*, 1995, Freitas *et al.*, 2009]. Apesar de alguns estudos terem avaliado os polimorfismos associados ao gene do receptor B2 da bradicinina quanto à sua prevalência em determinadas populações [Zakrzewski-Jakubiak *et al.*, 2008], para nosso conhecimento atual, estas variantes não foram estudadas em relação à vasodilatação periférica ou ao exercício.

1.3. O Exercício e Polimorfismos Genéticos

O desempenho cardiovascular durante o exercício, assim como outras características complexas, possui uma modulação poligênica e multifatorial, o que possibilita a investigação de uma ampla gama de polimorfismos genéticos associados a respostas fisiológicas durante o exercício. Apesar destas respostas ao exercício mostrarem associações com eventos cardiovasculares, determinantes genéticos do desempenho cardiovascular ao exercício ainda não estão bem estabelecidos.

Em um estudo que avaliou o impacto de 235 polimorfismos genéticos associados ao sistema neuro-humoral sobre a resposta da pressão arterial e da frequência cardíaca durante e após o exercício em 2982 indivíduos caucasianos, foram encontrados oito polimorfismos genéticos dos receptores alfa-adrenérgicos

associados aos fenótipos estudados [Ingelsson *et al.*, 2007]. Os autores inferiram que os genes codificadores dos receptores alfa-adrenérgicos seriam potenciais alvos de futuras pesquisas sobre a genética do exercício.

Polimorfismos genéticos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial foram estudados quanto ao desempenho cardiovascular durante o exercício em estudos com amostras entre 55 e 269 indivíduos [Hand *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2007; Spoton *et al.*, 2010]. O polimorfismo Glu298Asp associou-se a hipertensão induzida pelo exercício em indivíduos aparentemente saudáveis [Kim *et al.*, 2007] e às frequências cardíacas submáxima e máxima durante o exercício em mulheres menopausadas [Hand *et al.*, 2006]. O polimorfismo do gene da eNOS 786 T>C foi associado à resposta da pressão arterial ao treinamento físico em mulheres pós-menopausa [Spton *et al.*, 2010]. Estes resultados em estudos com amostras modestas permitem sugerir que o gene da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial seja um candidato na modulação da resposta cardiovascular ao exercício.

Em nossa experiência clínica, temos observado que indivíduos sem evidência de doença cardiovascular podem apresentar diferentes respostas durante o teste ergométrico. Esta observação nos levou a estudar fatores que possam influenciar esta variabilidade interindividual, como a vasodilatação muscular e polimorfismos genéticos de vias consideradas relevantes para a função cardiovascular.

2 Hipótese

Formulamos a hipótese que a resposta cardiovascular ao exercício possa ser influenciada pela capacidade vasodilatadora periférica e que polimorfismos genéticos dos receptores alfa-adrenérgicos, da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial e do receptor B2 da bradicinina possam modular a resposta cardiovascular ao teste ergométrico e a capacidade vasodilatadora periférica em homens e mulheres sem doença cardiovascular estabelecida.

3 Objetivos

3.1. Objetivo 1

Estudar as associações entre variáveis da resposta cardiovascular ao teste ergométrico e a vasodilatação muscular do antebraço em homens e mulheres sem doença cardiovascular estabelecida.

3.2. Objetivo 2

Estudar as associações de variáveis da resposta cardiovascular ao teste ergométrico e da vasodilatação muscular do antebraço com polimorfismos genéticos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial, dos receptores alfa-adrenérgicos e do receptor B2 da bradicinina.

4 Métodos

4.1. Participantes: 689 indivíduos foram selecionados dentre 1015 participantes do Projeto ``Saúde Cardiovascular em Pacientes Ambulatoriais`` (CAPPesq-HCFMUSP nº 852/03) entre fevereiro de 2005 e abril de 2010. A população do Projeto ``Saúde Cardiovascular em Pacientes Ambulatoriais`` foi constituída por voluntários residentes na região metropolitana de São Paulo que procuraram a Unidade Clínica de Ambulatório Geral do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para realização de avaliação médica cardiológica (*check-up*).

4.2. Avaliação médica cardiológica: a avaliação médica cardiológica incluiu a anamnese, interrogatório sobre os diferentes aparelhos e sistemas, no qual se realizou a pesquisa de sintomas cardiovasculares, antecedentes familiares, antecedentes pessoais, hábitos e condições de vida, e exame físico, dividido em exame físico geral e exame físico especial. Em seguida, os participantes realizaram eletrocardiograma de 12 derivações e a radiografia do tórax em posição pósterio-anterior. As seguintes características clínicas e demográficas foram obtidas: idade, sexo, peso, altura, etnia, história de tabagismo, frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e circunferência abdominal. Os participantes foram orientados a realizar os exames laboratoriais com jejum de 12 horas, o ecocardiograma transtorácico, o teste ergométrico e a pletismografia de oclusão venosa.

4.3. Critérios de inclusão: indivíduos de ambos os sexos, com idade ≥ 18 anos e sem antecedentes de doença cardiovascular.

4.4. Critérios exclusão: a) Evidência de cardiopatia com base na anamnese, exame físico, eletrocardiograma e radiografia do tórax; b) Pressão arterial sistêmica $\geq 140 \times 90$ mm Hg na primeira consulta ou história de hipertensão arterial sistêmica em tratamento c) Dislipidemia em uso de tratamento

farmacológico d) Portadores de diabetes melito, doença cerebrovascular, câncer, doença pulmonar obstrutiva crônica, hiper ou hipotireoidismo, ou outras doenças sistêmicas consideradas relevantes pelos examinadores; e) Limitação funcional acentuada para realização do teste ergométrico. Adicionalmente, após a inclusão, os participantes foram excluídos da análise se apresentassem as seguintes condições: resposta eletrocardiográfica isquêmica (infradesnivelamento do segmento ST em duas ou mais derivações contíguas ≥ 1 mm horizontal ou descendente ou ≥ 2 mm ascendente lento ou convexo), e/ou arritmia significativa durante o teste ergométrico, e/ou evidência de cardiopatia estrutural no ecocardiograma.

4.5. Cálculo do tamanho da amostra: o tamanho da amostra foi calculado com base na capacidade funcional média de 416 indivíduos de ambos os sexos (200 homens e 241 mulheres), sem doença cardiovascular, submetidos ao teste ergométrico em nossa instituição [Chalela *et al.*, 2009]. A idade média foi de 38,72 anos (desvio padrão 10,98) e a capacidade funcional média foi estimada em 11,4 METS (desvio padrão 2,34). Para estimar a diferença de 0,6 METS com α bidirecional=0,05 e β =0,10 o tamanho da amostra foi estimado em 470 indivíduos.

4.6. Resposta Cardiovascular ao Teste Ergométrico

Os pacientes foram orientados a se abster do uso de tabaco, alimentos contendo cafeína e bebidas alcoólicas no dia do exame. O teste ergométrico foi realizado em esteira rolante conforme o protocolo de Ellestad [Pollock *et al.*, 1976]. Os critérios para interrupção do teste ergométrico foram exaustão física e/ou frequência cardíaca máxima predita para idade atingida. Os registros eletrocardiográficos com 12 derivações clássicas foram obtidos em repouso, durante o pico do exercício e no 3º minuto da fase de recuperação. A frequência cardíaca foi monitorizada continuamente até o término do exame. A pressão arterial sistêmica foi mensurada antes do exercício, ao final de cada estágio do protocolo, no pico do exercício, e a cada minuto da fase de recuperação.

As variáveis estudadas durante o teste ergométrico foram:

- a) Capacidade de exercício (em METs). A capacidade funcional foi estimada conforme equação previamente descrita [Pollock *et al.*, 1976]: VO_2 máximo (ml/Kg/min) = 3,933 (tempo do exercício em minutos e frações de minuto) + 4,46. Como 1 MET equivale a um consumo de O₂ de 3,5 ml/Kg/min, a capacidade de exercício ao final do teste ergométrico foi estimada pela relação entre a VO_2 max/3,5 em METs.
- b) Reserva cronotrópica: calculada por meio da equação [FC máxima – FC repouso/ FC predita para a idade (em anos) – FC repouso]. A FC predita para a idade foi calculada pela fórmula: 220-idade (em anos).
- c) Pressão arterial sistólica máxima durante o pico do exercício.
- d) Pressão arterial diastólica máxima durante o pico do exercício.
- e) Recuperação da frequência cardíaca (RFC): diferença entre a FC máxima e a FC no 1º, 2º e 3º minutos da fase recuperação.
- f) Recuperação da pressão arterial sistólica (RPAS): diferenças entre a PAS máxima e a PAS no 1º, 2º e 3º minutos da fase de recuperação.

4.7. Capacidade Vasodilatadora Periférica: Fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular do antebraço.

4.7.1. Estudos da Vasodilatação Periférica

A vasodilatação periférica pode ser avaliada tanto nos membros inferiores como superiores por diferentes métodos e diferentes estímulos. Por questões técnicas, a avaliação da função vascular tem sido preferencialmente estudada nos membros superiores. Estudos prévios sugerem que haja correlação entre a avaliação da reatividade vascular nos membros superiores e inferiores [Padilla *et al.*, 2010], e que o exercício e o treinamento físico dos membros inferiores causem adaptações na função vascular dos membros superiores [Green *et al.*, 2008].

Diferentes métodos foram descritos para a mensuração da reatividade vascular, envolvendo a análise de vasos de resistência (microvasculatura) e de condutância (macrovasculatura) [Minson e Green, 2008]. A avaliação da dilatação da artéria braquial por meio da ultrassonografia de alta resolução é o método mais

utilizado atualmente para avaliar a reatividade macrovascular, enquanto que a avaliação do fluxo sanguíneo muscular por meio da pletismografia de oclusão venosa caracteriza preferencialmente a reatividade da microvasculatura.

Os estímulos vasodilatadores podem ser realizados por métodos invasivos, como a infusão de drogas no leito arterial estudado (ex: acetilcolina, nitroprussiato sódico, adenosina, entre outros), e não invasivos, como a indução do aumento do fluxo sanguíneo regional por meio do exercício isométrico do membro contralateral (hiperemia ativa) ou aumento do fluxo pós-isquemia do membro estudado (hiperemia reativa), fenômeno denominado vasodilatação fluxo-mediada (VFM).

A manobra fisiológica de *handgrip* (exercício isométrico) no braço dominante causa aumento significativo do fluxo sanguíneo muscular no braço não-exercitante [Trombetta *et al.*, 2003; Trombetta *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2005], e foi utilizada como marcador da função vascular em diferentes populações [Ribeiro *et al.*, 2005; Rondon *et al.*, 2006]. Trata-se, portanto, de um estímulo eficaz na determinação da função vasodilatadora muscular.

4.7.2 Protocolo utilizado no estudo

O fluxo sanguíneo muscular do antebraço (FSMA) foi mensurado por meio da pletismografia de oclusão venosa [Ribeiro *et al.*, 2005]. O braço não dominante foi elevado acima do nível do coração para assegurar uma drenagem venosa adequada. Um tubo silástico preenchido com mercúrio foi ligado a um transdutor de baixa pressão colocado em torno do antebraço e conectado a um pletismógrafo arterial Hokanson[®] (Figura 1). Um *cuff* de esfigmomanômetro foi colocado em torno do punho e no braço. A cada 15 segundos o *cuff* do braço foi inflado acima da pressão venosa por 7 a 8 segundos. O fluxo sanguíneo do antebraço (ml/min/100 ml de tecido) foi determinado a partir de quatro medidas separadas. A reprodutibilidade do fluxo sanguíneo do antebraço em diferentes intervalos de tempo no mesmo indivíduo em nosso laboratório é $r = 0,93$. A condutância vascular do antebraço foi calculada por meio da relação entre o FSMA e a pressão arterial média (PAM) x 100 em unidades.



Figura 1. Medida do fluxo sanguíneo muscular do antebraço pela técnica de pletismografia de oclusão venosa

O exercício isométrico com manobra de *handgrip* foi realizado no braço dominante com o uso de dinamômetro por 3 minutos com 30% da máxima contração voluntária (figura 2). Os pacientes foram instruídos a respirar normalmente sem realizar manobra de Valsava. O fluxo sanguíneo, a pressão arterial média e a frequência cardíaca foram registrados em repouso e a cada minuto do exercício isométrico. A pressão arterial média foi monitorizada de forma não invasiva com um oscilômetro automático (DX 2710, Dixel; Manaus, Brasil) colocado na coxa com *cuff* ajustado para circunferência da coxa. A frequência cardíaca foi monitorizada continuamente por meio da derivação DII do eletrocardiograma.

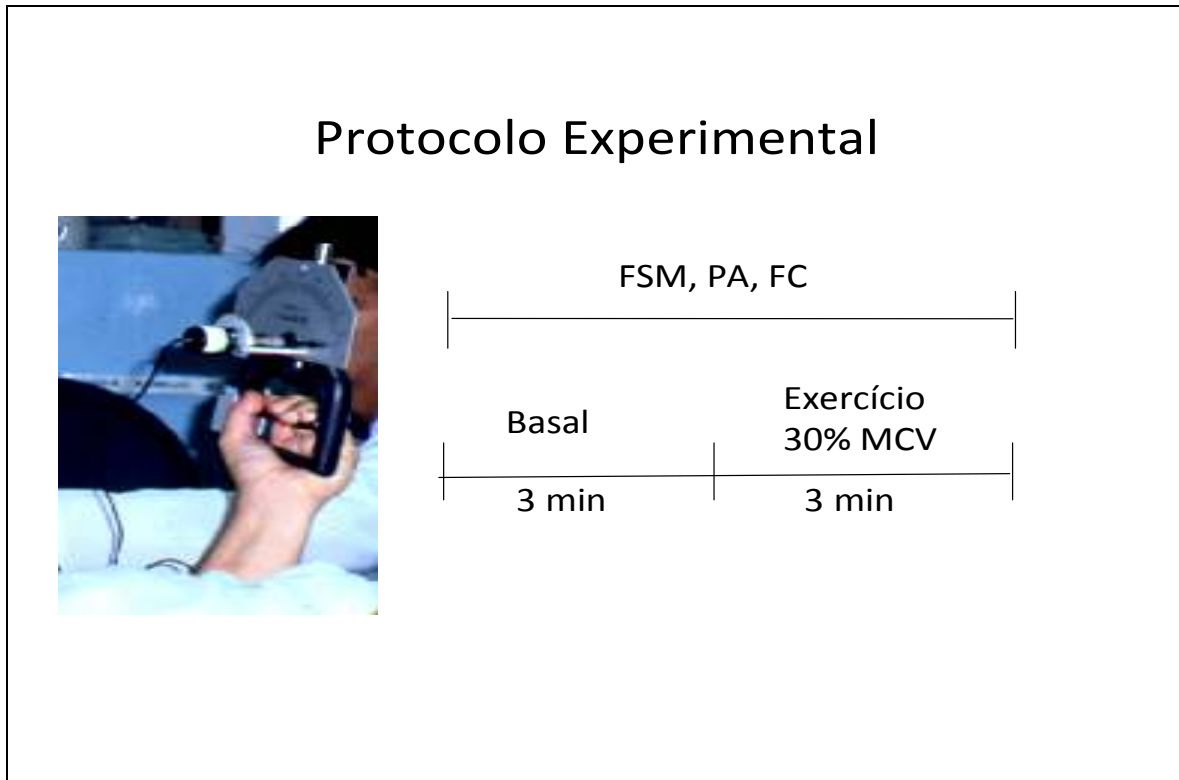


Figura 2. Protocolo de avaliação do fluxo sanguíneo muscular (FSM) do antebraço durante o exercício isométrico. PA, pressão arterial; FC, frequência cardíaca

A capacidade vasodilatadora muscular do antebraço foi estimada por meio do aumento da condutância vascular do antebraço (CVA) em relação aos valores basais (Δ exercício 1^o min, Δ exercício 2^o min, Δ exercício 3^o min) e cálculo da área sobre a curva total da CVA durante os 3 minutos de exercício.

4.8. Determinação dos Polimorfismos Genéticos

A amostra de sangue foi obtida por punção venosa periférica durante a primeira consulta após inclusão no protocolo e colocada em um tubo de ensaio com EDTA. Após a coleta, as amostras foram enviadas ao Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular do InCor-FMUSP para realização da extração do DNA genômico dos linfócitos presentes na amostra. Este DNA foi posteriormente armazenado a 4 graus Celsius.

Inicialmente, as sequências dos genes e os *locus* gênicos dos polimorfismos propostos foram pesquisados no site do *National Center for*

Biotechnology Information (NCBI) do *National Library of Medicine* (NLM) at the *National Institutes of Health* (NIH), no setorial de SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) através do número de registro do polimorfismo no banco de dados do site (número “rs”). Nesta seção, o banco de dados fornece uma sequência denominada “FASTA” na qual esta localizada a posição do polimorfismo no gene e a região vizinha ao polimorfismo, como mostra a Figura 3. Uma vez localizada a região de interesse do gene, a seqüência FASTA foi utilizada para desenhar os *primers* adequados às reações realizadas. A confecção dos *primers* foi realizada por meio dos programas “*Sequence Massager*” e “*Primer3*”. O primeiro permitiu a realização de melhorias na seqüência “FASTA”, e o segundo foi utilizado para confeccionar a seqüência dos *primers*, controlando detalhes importantes para o funcionamento dos mesmos como, por exemplo, tamanho, localização de pareamento no gene e porcentagem de bases C e G. Outros fatores importantes analisados no momento da confecção dos *primers* foram a ocorrência de outros polimorfismos próximos ao polimorfismo de interesse (“vizinhança”) e o tamanho do fragmento de amplificação (*amplicon*).

```

Fasta sequence (Legend)
>gnl|dbSNP|rs2070744|allelePos=301|totalLen=601|taxid=9606|snpclass=1|alleles='C/T'|mol=
TGTTTGTCTG TCTGTCTGCT GCTCCTAGTC TCTGCCTCTC CCA GTCTCTC AGCTTCCGTT
TCTTTCTTAA ACTTTCTCTC AGTCTCTGAG GTCTCGAAAT CACGAGGCTT CGACCCCTGT
GGACCAGATG CCCAGCTAGT GGCTTTCTC CAGCCCTCA GATGACACAG AACTACAAAC
CCCAGCATGC ACTCTGGCCT GAAAGTGCCTG GAGAGTGCTG GTGTACCCCA CCTGCATTCT
GGGAACTGTA GTTCCCTAG TCCCCATGC TCCCACCAGG GCATCAAGCT CTTCCCTGGC
Y
GGCTGACCCT GCCTCAGCCC TAGTCTCTCT GCTGACCTGC GGCCCCGGGA AGCGTGCGTC
ACTGAATGAC AGGGTGGGGG TGGAGGCACT GGAAGGCAGC TTCCTGCTCT TTTGTGTCCC
CCACTTGAGT CATGGGGGTG TGGGGTTCC AGGAAATTGG GGCTGGGAGG GGAAGGGATA
CCCTAATGTC AGACTCAAGG ACAAAAAGTC ACTACATCCT TGCTGGGCCT CTATCCCCAA
GAACCCAAA GGACTCAAGG GTGGGGATCC AGGAGTTCTT GTATGTATGG GGGGAGGTGA

```

Figura 3 – Exemplo de seqüência FASTA disponível no banco de dados do site NCBI. O “Y” circunscrito demarca a localização do polimorfismo (SNP). NCBI, *National Center of Biotechnology Information*; SNP, *single nucleotide polymorphism*

Assim, os *primers* foram desenhados e encomendados à empresa especializada e registrados no laboratório assim que chegaram. Uma vez no laboratório os *primers* foram ressuspensos em 0,5mL de TE 1X. Finalizada a adequação dos *primers*, iniciaram-se as padronizações das reações com as amostras dos participantes do estudo.

Para padronização foram utilizadas amostras de DNA controle e realização da Polymerase Chain Reaction gradiente (PCR-gradiente) com o intuito de testar em quais condições (temperatura e concentração de reagentes) a ação dos *primers* era mais efetiva. Foram realizadas reações com e sem a utilização de Dimetilsulfóxido (DMSO). Doze amostras iguais de DNA controles foram submetidas a 12 temperaturas diferentes entre 48° e 65°C (Figura 4), uma para cada temperatura (Tabela 1), juntamente com o par de *primers* que se desejava testar, e, após o término da reação de PCR-gradiente, correu-se um gel de agarose a 2% para verificação da amplificação da região de interesse e em qual temperatura a amplificação foi mais eficiente.

Tabela 1. Temperaturas dos primers submetidos ao PCR-gradiente

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
48°	48,4°	49,5°	50,8°	52,7°	55,2°	58°	60,5°	62,3°	63,7°	64,7°	65°

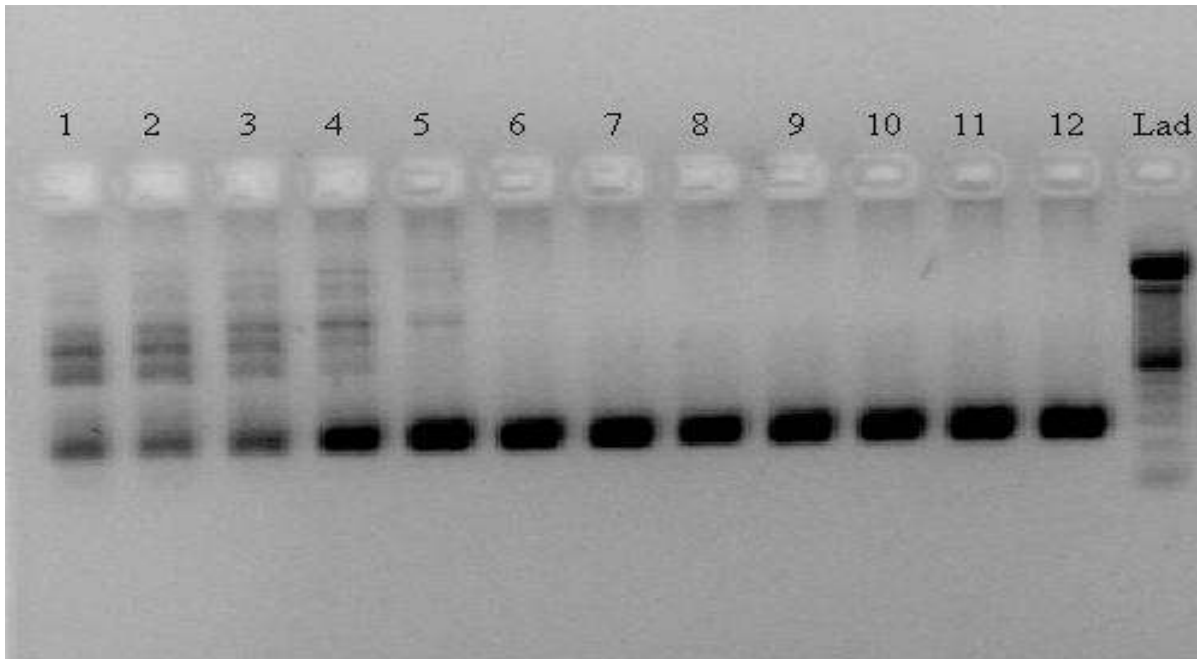


Figura 4 – Eletroforese de PCR gradiente. As temperaturas 1, 2, 3 e 4 demonstram o não funcionamento ideal do par de *primers* nessas temperaturas, uma vez que não há amplificação ou esta se encontra irregular. As temperaturas 5 a 12 demonstram temperaturas nas quais o par de *primers* funciona de forma ideal. (Lad) Ladder 100pb. PCR, *polymerase chain reaction*

Uma vez determinadas tais condições, efetuou-se a padronização da reação de HRM (*High Resolution Melting*) no equipamento Rotor-Gene6000® para determinar o genótipo de toda a população. A padronização consistia em submeter 12 amostras de DNA controle ao HRM, utilizando-se da temperatura de funcionamento dos *primers* determinada pela reação de PCR-gradiente. A reação de HRM faz uso de um corante fluorescente, o qual tem afinidade por DNA em fita dupla, utilizado para determinar o genótipo das amostras. Após a padronização, estabeleceu-se a faixa de temperatura crescente ideal para a ocorrência do *melting*.

A reação de HRM consistiu de duas fases: a primeira, uma fase de amplificação, na qual o fragmento de interesse foi amplificado numa reação de PCR em tempo real e as amostras adquiriram alta fluorescência; a segunda, uma fase de *melting*, na qual os fragmentos de DNA amplificados anteriormente foram submetidos a gradiente crescente de temperatura (entre 74°-90°C), ocorrendo desnaturação da dupla-fita de DNA e, conseqüentemente, uma queda na

fluorescência das amostras. Assim, variações mínimas entre o tempo de desnaturação das amostras, compatível com variações de pares de base entre as mesmas, foram detectadas pelo leitor de HRM. Após esta fase, o software apresentou curvas de queda de fluorescência (Figura 5), o que permitiu a determinação do genótipo de cada amostra.

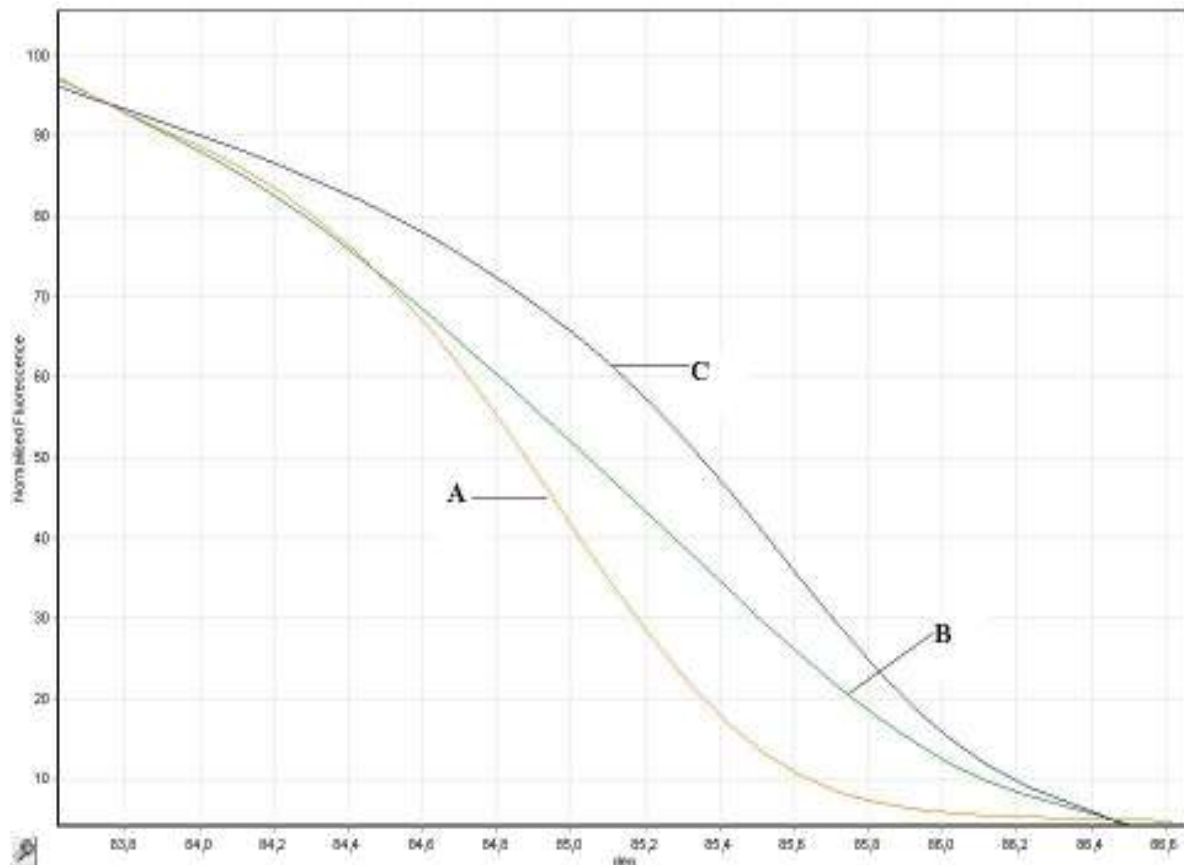


Figura 5 – Curvas esboçadas pelo software Rotor-Gene6000[®]. A forma distinta de cada curva revela uma diferença de um par de bases (pb) entre as amostras genotipadas, o que indica a ocorrência de um SNP no fragmento amplificado. Genótipos: (A) Selvagem, (B) Heterozigoto, (C) Mutante. SNP, *single nucleotide polymorphism*

4.9. Polimorfismos genéticos estudados

Os polimorfismos genéticos estudados e sua localização genética estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Polimorfismos genéticos propostos no estudo

Gene	Polimorfismo Genético	Genótipos	Registro NCBI	Tipo
eNOS	786 T>C	TT, CT, CC	rs2070744	Região promotora
	Glu298Asp	GG, GT, TT	rs1799983	Região codificadora
ADRA1A	Arg347Cys	TT, CT, CC	rs1048101	Região codificadora
ADRA2A	1780 C>T	TT, CT, CC	rs553668	3'UTR
ADRA2B	Del 301-303	II, ID, DD	rs28365031	Região codificadora
Bradicinina	BK2R	II, ID, DD	rs5810761	Região codificadora

NCBI, *National Center for Biotechnology Information*

4.10. Variáveis de controle

Clínica e antropométricas: idade, etnia (branco/caucasiano, pardo, negro/afro-descendente, amarelo/asiático), tabagismo, pressão arterial sistólica basal, pressão arterial diastólica basal, frequência cardíaca basal e índice de massa corpórea.

Laboratoriais: glicemia de jejum, colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides.

4.11. Análise estatística

Variáveis contínuas com distribuição próximas à normal foram expressas como média e desvio-padrão. Variáveis contínuas com distribuição assimétrica foram expressas na forma de mediana seguida da variação interquartil; variáveis categóricas foram expressas na forma de valor absoluto seguido da porcentagem. Foram consideradas como diferenças estatisticamente significantes as que resultaram em valor de $P < 0,05$.

A comparação de variáveis contínuas foi feita pelo teste T de *Student* e a comparação de variáveis categóricas pelo teste do Qui-quadrado ou exato de Fisher.

Foram realizadas análises exploratórias e descritivas dos dados. Coeficientes de correlação de Pearson foram realizados para avaliar a correlação entre as variáveis relacionadas ao teste ergométrico, à vasodilatação do antebraço e variáveis antropométricas e laboratoriais.

Em função da diferença entre homens e mulheres no desempenho cardiovascular durante o exercício observada em estudos prévios e em análise preliminar do nosso estudo, optamos por realizar a análise estatística inferencial estratificada para homens e mulheres.

As associações entre as variáveis do teste ergométrico, a vasodilatação muscular do antebraço e os polimorfismos genéticos foram estabelecidas por modelos de regressão linear múltipla e modelos mistos com ajuste para as variáveis de controle. Os modelos foram ajustados para a distribuição de cada variável resposta (capacidade de exercício, reserva cronotrópica, frequência cardíaca máxima, pressão arterial diastólica máxima, pressão arterial sistólica máxima, recuperação da frequência cardíaca e da pressão arterial sistólica). A capacidade de vasodilatação periférica, neste modelo considerada variável explicativa, foi estimada pelo aumento da área total sobre a curva da condutância vascular do antebraço durante os 3 minutos do exercício isométrico. Neste modelo foram também incluídos os polimorfismos genéticos como variáveis explicativas, considerando cada genótipo como variável independente. As comparações entre os genótipos de um mesmo polimorfismo foram realizadas tomando por referência o genótipo heterozigoto.

Para estudar as associações entre os polimorfismos genéticos e a vasodilatação muscular do antebraço foram utilizados modelos lineares mistos para os sexos masculino e feminino. Neste modelo, a capacidade de vasodilatação periférica foi considerada a variável resposta e estimada pela variação absoluta da condutância vascular do antebraço a cada minuto do exercício isométrico em relação aos valores basais. As comparações entre

genótipos do mesmo polimorfismo genético foram feitas levando em conta o genótipo heterozigoto com referência.

As variáveis de controle idade, sexo, índice de massa corpórea, etnia, glicemia de jejum, colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides foram incluídas nos modelos acima citados. As variáveis de controle pressão arterial sistólica basal, pressão arterial diastólica basal e frequência cardíaca basal foram incluídas nos modelos das variáveis respostas do teste ergométrico pressão arterial sistólica máxima, pressão arterial diastólica máxima e reserva cronotrópica, respectivamente.

4.12. Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa em Seres Humanos do HCFMUSP (CAPPEsq nº 0726/08). Todos participantes foram informados sobre o estudo, esclarecidos e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da inclusão no projeto.

5 Resultados

5.1. Características da amostra estudada

As características dos participantes do estudo estão detalhadas na Tabela 3. Dos 689 participantes selecionados para o estudo, 372 (54%) eram do sexo feminino e 317 (46%) do sexo masculino. As distribuições das etnias entre os participantes foram: brancos/caucasianos (76,9%), pardos (16%), negro-afrodescendentes (5,6%), amarelo-asiáticos (1,5%). Cento e trinta e um (19%) indivíduos eram tabagistas ativos no momento da avaliação. A idade média foi de 42,6 anos (variação de 18-79 anos). O índice de massa corpórea médio foi de 26,2 kg/m². Trinta e oito (9,4%) mulheres tomavam regularmente anticoncepcionais orais no momento da inclusão no estudo.

Tabela 3. Características antropométricas, clínicas e laboratoriais da amostra estudada (n = 689)

Variáveis	
	Média (desvio padrão)
Idade (anos)	42,6 (13,1)
	N (%)
Sexo	Masculino – 317 (46%) Feminino – 372 (54%)
Etnia	Caucasianos 456 (76,9%) Negros 33 (5,6%) Pardos 97 (16%) Asiático 9 (1,5%)
Tabagismo atual	131 (19%)
	Média (desvio padrão)
Índice de massa corpórea (kg/m ²)	26,2 (4,3)
Pressão arterial sistólica basal (mm Hg)	123,4 (13)
Pressão arterial diastólica basal (mm Hg)	80,5 (8,9)
Hemoglobina (g/dl)	14,4 (1,3)
Leucócitos/ mm ³)	6751 (1874)
Creatinina (mg/dl)	0,84 (0,18)

Tabela 3. Características antropométricas, clínicas e laboratoriais da amostra estudada (n = 689) (continuação)

Glicemia (mg/dl)	92,1 (8,6)
Colesterol total (mg/dl)	193 (37,9)
HDL (mg/dl)	49,3 (13,7)
LDL (mg/dl)	121,2 (32,5)
Triglicérides (mg/dl)	116,5 (77,9)
Proteína C-Reativa ultrasensível (g/dl)	2,58 (3,11)
Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (cm)	4,6 (0,3)
Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo (cm)	2,9 (0,3)
Septo interventricular (cm)	0,8 (0,1)
Parede posterior do ventrículo esquerdo (cm)	0,8 (0,6)
Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%)	66,1 (4,9)

As comparações entre homens e mulheres quanto às características basais estão descritas na Tabela 4. Não houve diferença significativa entre os sexos quanto à idade e ao índice de massa corpórea. Também não houve diferença entre os sexos quanto à prevalência de tabagismo, níveis de colesterol total e LDL-colesterol. Em relação às mulheres, os homens apresentaram maiores valores de glicemia de jejum ($P < 0,001$), triglicérides ($P < 0,001$), creatinina ($P < 0,001$), hemoglobina ($P < 0,001$) e diâmetros diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo ($P < 0,001$) e menores valores de HDL-colesterol ($P < 0,001$) e fração de ejeção do ventrículo esquerdo ($P < 0,001$).

Tabela 4. Comparação das médias das variáveis principais contínuas por sexo

Variável	Masculino		Feminino		P
	Média	Desvio	Média	Desvio	
Idade (anos)	41,9	12,6	43,2	13,7	0,169
Pressão arterial sistólica (mm Hg)	124,8	12,6	122,3	13,4	0,015
Pressão arterial diastólica (mm Hg)	81,7	9,2	79,4	8,6	0,001
Índice de massa corpórea (kg/m^2)	26,2	3,9	26,2	4,7	0,997
Glicemia (mg/dl)	94,2	8,5	90,4	8,3	$< 0,001$
HDL-colesterol (mg/dl)	45,2	12,6	52,8	13,7	$< 0,001$

Tabela 4. Comparação das médias das variáveis principais contínuas por sexo (continuação)

LDL- colesterol (mg/dl)	120,6	31,1	121,7	33,8	0,671
Colesterol total (mg/dl)	192	37,4	193,9	38,5	0,520
Hemoglobina (g/dL)	15,4	0,9	13,6	1	< 0,001
Leucócitos (cels/mm ³)	6722	1786	6776	1949	0,717
Creatinina (mg/dl)	0,97	0,14	0,74	0,12	< 0,001
Triglicérides (mg/dl)	136,7	94,7	99,4	54,7	< 0,001
PCR ultrasensível (g/dL)	2,14	2,65	2,95	3,41	0,003
DDVE (cm)	4,81	0,39	4,46	0,33	< 0,001
DSVE (cm)	3,1	0,3	2,8	0,3	< 0,001
Septo interventricular (cm)	0,9	0,1	0,8	0,1	< 0,001
PPVE (cm)	0,9	0,1	0,9	0,8	0,948
FEVE (%)	64,8	5,1	67,1	4,6	< 0,001

PCR, proteína C reativa; DDVE, diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo; DSVE, diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo; PPVE, parede posterior do ventrículo esquerdo; FEVE, fração de ejeção do ventrículo esquerdo

5.2. Distribuição alélica dos polimorfismos estudados

A distribuição dos polimorfismos genéticos entre os participantes do estudo está descrita na Tabela 5. A taxa de sucesso na genotipagem de cada polimorfismo foi: ADRA1A Arg347Cys = 99%, ADRA2A 1780 C>T = 99,2%, ADRA2B Del301-303 = 97%, eNOS 786 T>C = 98,3%, eNOS Glu298Asp = 98,9%, Bradicinina (BK2R) = 99,7%.

Tabela 5. Distribuição dos polimorfismos genéticos estudados

Polimorfismo Genético	Genótipo (%)			Alelos (%)	
	CC	CT	TT	C	T
ADRA1A Arg347Cys	182 (30,4)	291 (48,6)	126 (21)	655 (54,7)	543 (45,3)
ADRA2A 1780 C>T	371 (61,8)	199 (33,2)	30 (5)	941 (78,4)	259 (21,6)
eNOS 786 T>C	66 (11,1)	242 (40,8)	285 (48,1)	374 (31,5)	812 (68,5)
	II	ID	DD	I	D
ADRA2B DEL301-303	368 (62,9)	142 (24,3)	75 (12,8)	878 (75)	292 (25)
BRADICININA (BK2R)	173 (28,7)	308 (51,1)	122 (20,2)	654 (54,2)	652 (45,8)
	GG	GT	TT	G	T
eNOS Glu298Asp	297 (49,7)	250 (41,8)	51 (8,5)	844 (70,6)	352 (29,4)

A distribuição genotípica dos polimorfismos estudados foi compatível com o equilíbrio de Hardy-Weinberg para os polimorfismos estudados, com exceção do polimorfismo ADRA2B Del301-303 (Tabela 6). Dentre os polimorfismos estudados, nota-se correlação moderada entre a distribuição dos polimorfismos localizados no gene da eNOS 786T>C e Glu298Asp ($r = 0,355$), sugerindo que estas variantes possam estar em desequilíbrio de ligação (Tabela 7).

Tabela 6. Distribuições dos genótipos para os polimorfismos genéticos estudados e as respectivas distribuições esperada para cada polimorfismo conforme Equilíbrio de Hardy-Weinberg

Polimorfismo Genético	Distribuição observada			Distribuição esperada- Hardy-Weinberg			Valor P
	HS	Ht	HM	HS	Ht	HM	
ADRA1A Arg347Cys	197	328	134	197,76	326,49	134,76	0,905
ADRA2A 1780 C>T	413	215	32	410,49	220,03	29,49	0,557
ADRA2B Del 301-303	409	153	83	365,44	240,12	39,44	<0,001
eNOS 786 T>C	313	270	71	306,89	282,23	64,89	0,267
eNOS Glu298Asp	329	272	57	328,61	272,78	56,61	0,941
Bradicinina BK2R	193	333	137	194,93	329,13	138,93	0,762

HS, homozigoto selvagem; Ht, heterozigoto; HM, homozigoto mutante

Tabela 7. Coeficientes de associação entre os polimorfismos estudados

Par	n	r	Qui-quadrado	Valor P
ADRA2B DEL301.303 x ADRA1A Arg347Cys	641	- 0,004	0,017	0,898
ADRA2B DEL301.303 x ADRA2A.C1780T	643	0,012	0,179	0,672
ADRA2B DEL301.303 x eNOS_786T.C	639	0,026	0,857	0,355
ADRA2B DEL301.303 x eNOS_Glu298Asp	642	0,075	7,223	0,007
ADRA2B DEL301.303 x BRADICININA_BK2R	643	0,052	3,501	0,061
ADRA1A Arg347Cys x ADRA2A.C1780T	658	0,011	0,146	0,702
ADRA1A Arg347Cys x eNOS_786T.C	650	- 0,042	2,286	0,131
ADRA1A Arg347Cys x eNOS_Glu298Asp	657	0,039	2,001	0,157
ADRA1A Arg347Cys x BRADICININA_BK2R	659	0,060	4,756	0,029
ADRA2A.C1780T x eNOS_786T.C	652	- 0,001	0,003	0,959
ADRA2A.C1780T x eNOS_Glu298Asp	658	- 0,024	0,732	0,392
ADRA2A.C1780T x BRADICININA_BK2R	660	0,023	0,725	0,394
eNOS_786T.C x eNOS_Glu298Asp	650	0,355	163,613	<0,001
eNOS_786T.C x BRADICININA_BK2R	653	- 0,032	1,333	0,248
eNOS_Glu298Asp x BRADICININA_BK2R	658	- 0,041	2,177	0,140

As distribuições dos polimorfismos genéticos ADRA1A Arg347Cys, ADRA2A 1780 C>T, ADRA2B Del 301-303, eNOS 786T>C, eNOS Glu298Asp e BK2R em relação ao diferentes grupos étnicos entre os participantes incluídos no modelo estão descritas respectivamente nas Tabelas 8 a 13. Observamos que para os polimorfismos ADRA2A 1780 C>T, ADRA2B Del 301-303 e eNOS786 T>C

não houve diferenças significativas nas frequências dos genótipos em relação à etnia. Em relação ao polimorfismo ADRA1A Arg347Cys, notamos maior prevalência do genótipo TT no grupo "Caucasianos" e do genótipo CC no grupo "Pardos" quando comparados aos demais grupos étnicos ($P < 0,001$). No polimorfismo eNOS Glu298Asp, o genótipo GG foi mais comum no grupo Pardos e o genótipo TT mais comum em Caucasianos em relação aos demais grupos étnicos ($P = 0,012$). No polimorfismo BK2R, o genótipo Deleção/Deleção apresentou maior frequência entre asiáticos em relação aos demais grupos ($P = 0,019$).

Tabela 8. Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo ADRA1A Arg347Cys em relação à etnia

ADRA1A Arg347Cys	Caucasiano	Afro- descendente	Pardo	Asiático	Total
CC	213 (49,3)	8 (26,7)	51 (57,3)	3 (33,3)	275 (49,1)
CT	119 (27,5)	17 (56,7)	29 (32,6)	6 (66,7)	171 (30,5)
TT	100 (23,2)	5 (16,6)	9 (10,1)	0 (0)	114 (20,4)
Total	432 (100)	30 (100)	89 (100)	9 (100)	560 (100)

Tabela 9. Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo ADRA2A 1780 C>T em relação à etnia

ADRA2A 1780 C>T	Caucasiano	Afro- descendente	Pardo	Asiático	Total
CC	130 (30)	13 (43,3)	35 (39,3)	5 (55,6)	183 (32,6)
CT	281 (64,9)	17 (56,7)	49 (55,1)	3 (33,3)	350 (62,4)
TT	22 (5,1)	0 (0)	5 (5,6)	1 (11,1)	28 (5)
Total	433 (100)	30 (100)	89 (100)	9 (100)	561 (100)

Tabela 10. Frequências absolutas e relativas (%) dos genótipos do polimorfismo ADRA2B DEL301-303 em relação à etnia

ADRA2B DEL301-303	Caucasiano	Afro- descendente	Pardo	Asiático	Total
II	92 (21,7)	7 (23,3)	26 (30,6)	4 (44,4)	129 (23,6)
ID	277(65,5)	19 (63,3)	50 (58,8)	5 (55,6)	351 (64,2)
DD	54 (12,8)	4 (13,4)	9 (10,6)	0 (0)	67 (12,2)
Total	423 (100)	30 (100)	85 (100)	9 (100)	547 (100)

Tabela 11. Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo eNOS786 T>C em relação à etnia

eNOS 786T>C	Caucasiano	Afro- descendente	Pardo	Asiático	Total
TT	182 (42,3)	8 (26,7)	36 (41,4)	1 (12,5)	227 (40,9)
CT	196 (45,6)	19 (63,3)	46 (52,9)	6 (75)	267 (48,1)
CC	52 (12,1)	3 (10)	5 (5,7)	1 (12,5)	61 (11)
Total	430 (100)	30 (100)	87 (100)	8 (100)	555 (100)

Tabela 12. Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo eNOS Glu298Asp em relação à etnia

eNOS Glu298Asp	Caucasiano	Afro- descendente	Pardo	Asiático	Total
	165 (38,3)	11 (36,7)	41 (46,1)	0 (0)	217 (38,8)
GT	218 (50,6)	18 (60)	45 (50,5)	9 (100)	290 (51,9)
TT	48 (11,1)	1 (3,3)	3 (3,4)	0 (0)	52 (9,3)
Total	431 (100)	30 (100)	89 (100)	9 (100)	559 (100)

Tabela 13. Frequências absolutas e relativas (%) do polimorfismo BK2R em relação à etnia

BK2R	Caucasiano	Afro- descendente	Pardo	Asiático	Total
II	220 (50,6)	16 (53,4)	47 (52,2)	1 (11,1)	284 (50,3)
ID	129 (29,6)	7 (23,3)	28 (31,1)	1 (11,1)	165 (29,3)
DD	86 (19,8)	7 (23,3)	15 (16,7)	7 (77,8)	115 (20,4)
Total	435 (100)	30 (100)	90 (100)	9 (100)	564 (100)

5.3. Resposta cardiovascular ao teste ergométrico

As respostas fisiológicas durante o teste ergométrico para toda a amostra estão ilustradas na Tabela 14.

Tabela 14. Resposta cardiovascular ao teste ergométrico dos participantes do estudo

Variável	Média	Desvio padrão
FC basal (b.p.m)	82,9	13,1
FC máxima (b.p.m)	164,6	16,2
RFC 1º minuto (b.p.m)	41,8	15,4
RFC 2º minuto (b.p.m)	57,2	14,5
RFC 3º minuto (b.p.m)	63,3	14,2
PAS basal (mm Hg)	125,5	14,1
PAS máxima (mm Hg)	169,9	22,4
RPAS 1º minuto (mm Hg)	9,7	13,6
RPAS 2º minuto (mm Hg)	19,9	15,9
RPAS 3º minuto (mm Hg)	30,1	15,9
PAD basal (mm Hg)	82,1	9,3
PAD máxima (mm Hg)	85,3	10,4
Tempo de exercício (segundos)	446,6	111,2
Capacidade de exercício em METs	9,7	2,1
Reserva Cronotrópica	0,88	0,14

FC, frequência cardíaca; RFC, recuperação da frequência cardíaca, PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica.

A Tabela 15 ilustra a comparação das principais variáveis do teste ergométrico entre homens e mulheres. Com exceção dos valores da recuperação da frequência cardíaca e da pressão arterial sistólica após o teste ergométrico, observamos diferenças significativas entre as respostas de homens e mulheres em relação às demais variáveis estudadas do teste ergométrico. Os homens apresentaram maior capacidade de exercício, maior pressão arterial sistólica e diastólica, e maior frequência cardíaca durante o teste ergométrico em relação às mulheres.

Tabela 15. Resposta cardiovascular ao teste ergométrico quanto ao sexo

Variável	Masculino		Feminino		Valor-P
	Média	DP	Média	DP	
Tempo de Exercício	497	102	404	100	< 0,001
Capacidade de exercício em METs	10,6	1,9	8,8	1,9	< 0,001
Reserva Cronotrópica	0,9	0,12	0,86	0,15	< 0,001
PAS máxima (mm Hg)	181	20,8	160,6	19,4	< 0,001
PAD máxima (mm Hg)	87,8	10,7	83,2	9,8	< 0,001
PAS 1º minuto da recuperação (mm Hg)	169,7	21,6	151,4	20,1	< 0,001
PAS 2º minuto da recuperação (mm Hg)	161,3	21,3	140,4	18,2	< 0,001
PAS 3º minuto da recuperação (mm Hg)	148,7	18,7	131,7	15,1	< 0,001
RPAS 1º minuto	11,1	15	8,6	12,2	0,072
RPAS 2º minuto	20,2	17,6	19,6	14,4	0,706
RPAS 3º minuto	31,7	16,7	28,9	16	0,089
FC máxima	167,6	14,3	162,2	17,4	< 0,001
FC 1º minuto da recuperação (b.p.m)	126,5	18	120,6	19,6	0,001
FC 2º minuto da recuperação (b.p.m)	111,3	16,8	103,8	18,2	< 0,001
FC 3º minuto da recuperação (b.p.m)	105,2	15	98,5	15,8	< 0,001
RFC 1º minuto (b.p.m)	41,1	17,1	42,6	13,7	0,304
RFC 2º minuto (b.p.m)	56,1	15,2	58,5	13,8	0,082
RFC 3º minuto (b.p.m)	62,4	14,3	64,1	14,2	0,214

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca; RFC, recuperação da frequência cardíaca

5.4. Resposta do fluxo sanguíneo muscular do antebraço e da condutância vascular

A resposta do fluxo sanguíneo muscular do antebraço e da condutância vascular durante exercício isométrico está representada na Tabela 16. Podemos notar que, em relação aos valores basais, a pressão arterial média, a frequência cardíaca, o fluxo sanguíneo muscular e a condutância vascular do antebraço aumentaram progressivamente durante a realização do exercício isométrico. As respostas do fluxo sanguíneo muscular e da condutância vascular do antebraço para o sexo masculino e o sexo feminino estão descritas na Tabela 17. Em relação ao fluxo sanguíneo muscular do antebraço, os homens apresentaram maior valor basal e variação do fluxo sanguíneo durante o exercício em relação às mulheres. Em relação à condutância vascular do antebraço os homens

apresentaram maior variação durante o 1º minuto do exercício, mas a condutância não foi significativamente diferente entre os sexos na condição basal e durante o 2º e 3º minutos do exercício.

Tabela 16. Resposta da pressão arterial, frequência cardíaca, fluxo sanguíneo muscular do antebraço (FSMA) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o exercício isométrico

Variável	Basal (DP)	Δ exercício 1º minuto (DP)	Δ exercício 2º minuto (DP)	Δ exercício 3º minuto (DP)
Pressão arterial média (mm Hg)	94,6 (11,3)	5,7 (9,8)	11,9 (10,8)	15,7 (13,4)
Frequência cardíaca (b.p.m)	65,1 (9,3)	4,7 (5,6)	7,2 (8,6)	8,8 (7,6)
FSMA (ml.min ⁻¹ .100ml ⁻¹)	1,91 (0,63)	0,41 (0,46)	0,64 (0,58)	0,87 (0,66)
CVA (unidades)	2,04 (0,69)	0,29 (0,48)	0,37 (0,53)	0,52 (0,66)

Tabela 17. Fluxo sanguíneo muscular do antebraço e condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico em homens e mulheres

Variável	Masculino		Feminino		P
	Média	Desvio	Média	Desvio	
FSMA basal	2,02	0,59	1,82	0,65	< 0,001
Δ exercício 1º min	0,51	0,54	0,32	0,34	< 0,001
Δ exercício 2º min	0,77	0,71	0,53	0,4	< 0,001
Δ exercício 3º min	1	0,77	0,76	0,52	< 0,001
CVA Basal	2,1	0,67	2,00	0,71	0,107
Δ exercício 1º min	0,34	0,51	0,25	0,44	0,035
Δ exercício 2º min	0,4	0,63	0,34	0,43	0,205
Δ exercício 3º min	0,51	0,73	0,53	0,59	0,735

FSMA, fluxo sanguíneo muscular do antebraço; CVA, condutância vascular do antebraço

5.5. Associações entre a resposta cardiovascular ao teste ergométrico, a vasodilatação muscular do antebraço e variáveis clínicas e laboratoriais

Os coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis do teste ergométrico e da vasodilatação muscular do antebraço (fluxo sanguíneo muscular do antebraço e condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico) foram baixos. Para o sexo masculino, a maior correlação foi demonstrada entre a reserva cronotrópica e a variação do fluxo sanguíneo muscular do antebraço ($r = 0,25$), e a reserva cronotrópica e a variação da condutância vascular do antebraço

($r = 0,22$) (Tabela 18). Para o sexo feminino, nenhum coeficiente foi maior que 0,2 entre todas as variáveis estudadas (Tabela 19).

Tabela 18. Coeficientes de correlação entre variáveis do teste ergométrico e variáveis da vasodilatação do antebraço para o sexo masculino

Variável	FSB	Δ FSE			CVB	Δ CVE		
		1º min	2º min	3º min		1º min	2º min	3º min
Capacidade de exercício	-0,05	-0,12	-0,16	-0,12	-0,01	-0,13	-0,16	-0,09
Reserva Cronotrópica	-0,08	0,21	0,22	0,25	-0,10	0,22	0,22	0,22
PAS Máxima	0,00	0,05	0,08	0,02	-0,13	0,06	0,06	-0,02
PAD Máxima	0,03	0,03	0,04	0,00	-0,17	0,03	0,04	-0,02
RPAS 1º minuto	-0,10	0,02	-0,03	-0,01	-0,11	0,01	-0,01	0,08
RPAS 2º minuto	0,00	0,16	0,12	0,13	-0,02	0,16	0,12	0,18
RPAS 3º minuto	-0,03	0,08	0,07	0,05	-0,07	0,08	0,05	0,07
FC Máxima	0,02	0,04	0,03	0,04	0,05	0,06	0,02	0,05
RFC 1º minuto	-0,01	-0,06	-0,10	-0,12	0,02	-0,09	-0,12	-0,11
RFC 2º minuto	-0,07	-0,09	-0,12	-0,12	-0,03	-0,10	-0,13	-0,13
RFC 3º minuto	-0,10	-0,11	-0,13	-0,14	-0,04	-0,11	-0,16	-0,16

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca; RFC, recuperação da frequência cardíaca; FSB, fluxo sanguíneo basal; CVB, condutância vascular basal; Δ FSE, variação do fluxo sanguíneo durante o exercício; Δ CVE, variação da condutância durante o exercício

Tabela 19. Coeficientes de correlação entre as variáveis do teste ergométrico e as variáveis da vasodilatação do antebraço para o sexo feminino

Variável	FSB	Δ FSE			CVB	Δ CVE		
		1º min	2º min	3º min		1º min	2º min	3º min
Capacidade de exercício	0,03	-0,08	-0,11	-0,05	0,13	-0,10	-0,04	0,00
Reserva Cronotrópica	0,00	0,05	0,06	0,01	-0,02	0,05	0,10	0,01
PAS Máxima	-0,01	0,05	0,05	-0,03	-0,12	0,03	0,04	-0,09
PAD Máxima	0,00	0,06	0,10	0,03	-0,12	0,03	0,08	-0,02
RPAS 1º minuto	-0,02	-0,11	-0,08	-0,14	0,05	-0,09	-0,10	-0,14
RPAS 2º minuto	0,03	-0,02	0,00	-0,08	0,06	0,05	0,02	-0,05
RPAS 3º minuto	0,00	-0,04	-0,03	-0,12	-0,02	0,00	0,01	-0,06

Tabela 19. Coeficientes de correlação entre as variáveis do teste ergométrico e as variáveis da vasodilatação do antebraço para o sexo feminino (continuação)

FC Máxima	0,07	0,07	0,07	0,04	0,13	0,03	0,07	0,04
RFC 1º minuto	-0,13	-0,04	-0,05	-0,14	-0,08	-0,09	-0,12	-0,14
RFC 2º minuto	-0,27	-0,09	-0,13	-0,20	-0,22	-0,09	-0,15	-0,21
RFC 3º minuto	-0,21	-0,06	-0,11	-0,15	-0,14	-0,07	-0,13	-0,16

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca; RFC, recuperação da frequência cardíaca; FSB, fluxo sanguíneo basal; CVB, condutância vascular basal; Δ FSE, variação do fluxo sanguíneo durante o exercício; Δ CVE, variação da condutância durante o exercício

As tabelas 20 a 27 descrevem as estimativas e significâncias das principais associações entre a variável explicativa área total sob a curva da condutância vascular do antebraço e as variáveis de controle clínicas e laboratoriais com as variáveis respostas do teste ergométrico capacidade de exercício, reserva cronotrópica, pressão arterial sistólica máxima e pressão arterial diastólica máxima.

No modelo de regressão linear múltipla, as variáveis do teste ergométrico capacidade de exercício, reserva cronotrópica, a pressão arterial sistólica máxima e pressão arterial diastólica máxima não se associaram à vasodilatação muscular do antebraço estimada pelo aumento da área total sob a curva da condutância vascular do antebraço em ambos os sexos.

A capacidade de exercício associou-se inversamente em mulheres e homens à frequência cardíaca em repouso ($P = 0,005$; $P < 0,001$, respectivamente), idade ($P < 0,001$; $P < 0,001$, respectivamente) e índice de massa corpórea ($P = 0,021$; $P < 0,001$, respectivamente). A capacidade de exercício associou-se positivamente à etnia asiática no sexo masculino ($P = 0,025$).

Tabela 20. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para a capacidade de exercício para o sexo feminino

Variável	Estimativa	Valor - P
CVA (área total sob a curva)	0,055	0,275
Frequência cardíaca basal	-0,028	0,005
Idade	-0,056	<0,001
Índice de massa corpórea	-0,066	0,021

CVA, condutância vascular do antebraço

Tabela 21. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para capacidade de exercício para o sexo masculino

Variável	Estimativa	Valor - P
CVA (área total sob a curva)	-0,088	0,116
Frequência cardíaca basal	-0,05	<0,001
Idade	-0,062	<0,001
Etnia (asiático)	1,972	0,025
Índice de massa corpórea	-0,171	<0,001

CVA, condutância vascular do antebraço

A reserva cronotrópica associou-se em homens e mulheres ao não tabagismo ($P < 0,001$; $P < 0,001$, respectivamente). No sexo feminino, a reserva cronotrópica associou-se à frequência cardíaca em repouso ($P = 0,001$), triglicérides sérico ($P = 0,022$) e pressão diastólica basal ($P = 0,016$). No sexo masculino, a reserva cronotrópica associou-se à idade ($P = 0,001$).

Tabela 22. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para reserva cronotrópica para o sexo feminino

Variável	Estimativa	Valor - P
CVA (área total sob a curva)	0,003	0,504
Pressão diastólica basal	0,003	0,016
Frequência cardíaca basal	0,003	0,001
Triglicérides	0,004	0,022
Tabagismo (não)	0,108	<0,001

CVA, condutância vascular do antebraço

Tabela 23. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para reserva cronotrópica para o sexo masculino

Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	-0,002	0,560
Idade	0,002	0,001
Tabagismo (não)	26,289	<0,001

CVA, condutância vascular do antebraço

A pressão arterial diastólica máxima associou-se em ambos os sexos à idade ($P = 0,013$; $P = 0,001$, respectivamente) e pressão arterial diastólica em repouso ($P < 0,001$; $P < 0,001$, respectivamente). No sexo masculino, a pressão arterial diastólica máxima associou-se ao índice de massa corpórea ($P = 0,046$). A pressão arterial sistólica máxima associou-se em ambos os sexos à pressão arterial sistólica em repouso ($P < 0,001$; $P < 0,001$, respectivamente).

Tabela 24. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para pressão arterial diastólica máxima para o sexo feminino

Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	-0,092	0,664
Pressão arterial diastólica basal	0,731	<0,001
Idade	0,1	0,013

CVA, condutância vascular do antebraço

Tabela 25: Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para pressão arterial diastólica máxima para o sexo masculino

Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	-0,446	0,072
Pressão arterial diastólica basal	0,774	<0,001
Idade	0,167	0,001
Índice de massa corpórea	0,356	0,046

CVA, condutância vascular do antebraço

Tabela 26. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para pressão arterial sistólica máxima para o sexo feminino

Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	-0,708	0,105
Pressão arterial sistólica basal	0,814	<0,001

CVA, condutância vascular do antebraço

Tabela 27. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para pressão arterial máxima para o sexo masculino

Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	-0,784	0,367
Pressão arterial sistólica basal	0,804	<0,001

CVA, condutância vascular do antebraço

As tabelas 28 a 29 descrevem as estimativas e significâncias das principais associações entre a variável explicativa área total sob a curva da condutância vascular do antebraço e as variáveis de controle clínicas e laboratoriais com as variáveis respostas do teste ergométrico recuperação da pressão arterial sistólica e recuperação da frequência cardíaca.

Tabela 28. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para recuperação da pressão arterial sistólica para ambos os sexos

Sexo Feminino		
Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	-0,269	0,571
Sexo Masculino		
Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	-0,025	0,963
Pressão arterial sistólica basal	0,213	0,06

CVA, condutância vascular do antebraço

Tabela 29. Estimativas e significâncias das variáveis relativas ao modelo para recuperação da frequência cardíaca para ambos os sexos

Sexo Feminino		
Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	-0,872	0,230
Frequência cardíaca basal	-0,444	< 0,0001
Idade	-0,319	< 0,0001
Sexo Masculino		
Variável	Estimativa	Valor P
CVA (área total sob a curva)	0,208	0,623
Frequência cardíaca basal	-0,411	< 0,001
Idade	-0,392	<0,001

CVA, condutância vascular do antebraço

No modelo linear misto, a recuperação da pressão arterial sistólica e a recuperação da frequência cardíaca não se associaram à área total sob curva da condutância vascular. Em ambos os sexos, a recuperação da frequência cardíaca associou-se inversamente à idade ($P < 0,001$; $P < 0,001$, respectivamente) e à frequência cardíaca em repouso ($P < 0,001$; $P < 0,001$, respectivamente).

5.6. O teste ergométrico e os polimorfismos genéticos dos receptores alfa-adrenérgicos

O polimorfismo ADRA1A Arg347Cys associou-se com a pressão arterial sistólica máxima no sexo masculino (Tabela 30). Indivíduos portadores do genótipo TT (Cys/Cys) apresentaram valores de pressão arterial sistólica máxima maiores que o genótipo CT (Arg/Cys) ($P = 0,049$). Não houve diferença significativa quanto à pressão arterial sistólica máxima entre os genótipos CC (Arg/Arg) e CT (Arg/Cys), o que sugere que a pressão arterial sistólica máxima seja maior em portadores do genótipo TT em relação aos portadores do alelo C.

O polimorfismo ADRA2A 1780 C>T associou-se significativamente à pressão arterial diastólica máxima no sexo masculino e à pressão arterial sistólica máxima em ambos os sexos (Tabela 31). Os participantes portadores do genótipo TT apresentaram maior pressão arterial diastólica máxima em relação aos portadores do genótipo CT ($P = 0,049$). Não houve diferença significativa quanto à pressão arterial diastólica máxima em portadores dos genótipos CC e CT, o que

indica que a pressão arterial diastólica máxima seja maior em portadores do genótipo TT em relação aos portadores do alelo C. Mulheres portadoras do genótipo CC apresentaram pressão arterial sistólica máxima menor que portadoras do genótipo CT ($P = 0,009$), sem diferença entre os genótipos TT e CT. Em homens portadores do genótipo TT, observou-se maior pressão arterial sistólica máxima em relação ao genótipo CT ($P = 0,022$) e ausência de diferença entre os genótipos CC e CT. Estes dados sugerem que do alelo T esteja associado a maior elevação da pressão arterial sistólica durante o teste ergométrico em relação ao alelo C.

Tabela 30. Associações entre o polimorfismo do gene ADRA1A Arg347Cys e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada

	Estimativa (Feminino/Masculino)	Valor P* (Feminino/Masculino)
Capacidade de exercício		
CC	0,108/0,242	0,712/0,44
TT	0,173/0,608	0,598/0,068
Reserva cronotrópica		
CC	-0,002/0,003	0,944/0,214
TT	0,009/0,025	0,860/0,243
PAD máxima		
CC	1,876/-2,053	0,124/0,133
TT	0,724/-0,352	0,601/0,818
PAS máxima		
CC	-0,252/-1,613	0,921/0,621
TT	0,666/7,002	0,817/ 0,049**
Recuperação da FC		
CC	0,674/0,872	0,775/0,741
TT	-1,161/-0,801	0,653/0,792
Recuperação da PAS		
CC	1,273/-2,482	0,653/0,513
TT	4,877/3,489	0,108/0,371

PAD, Pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca. * Valor P para os genótipos CC e TT versus o genótipo de referência CT. ** Associação com significância nominal ($P < 0,05$).

Tabela 31. Associações entre o polimorfismo do gene ADRA2A 1780 C>T e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada

	Estimativa (Feminino/Masculino)	Valor P* (Feminino/Masculino)
Capacidade de exercício		
CC	-0,116/0,179	0,678/0,502
TT	-0,307/-0,196	0,645/0,790
Reserva cronotrópica		
CC	-0,029/-0,010	0,225/0,538
TT	0,066/-0,018	0,233/0,674
PAD máxima		
CC	- 1,224/ -1,118	0,293/0,364
TT	3,132/ 6,438	0,262/ 0,049**
PAS máxima		
CC	-6,411 /-2,012	0,009** /0,817
TT	5,567/ 55,47	0,335/ 0,022**
Recuperação da FC		
CC	-1,34/-0,740	0,546/0,760
TT	5,307/6,563	0,350/0,281
Recuperação da PAS		
CC	-4,222/-0,328	0,106/0,924
TT	-3,159/0,702	0,617/0,926

PAD, Pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca. * Valor P para os genótipos CC e TT versus o genótipo de referência CT. ** Associação com significância nominal ($P < 0,05$).

O polimorfismo ADRA2B Del 301-303 associou-se com a pressão arterial sistólica máxima e pressão arterial diastólica máxima no sexo feminino (Tabela 32). Portadoras do genótipo DD apresentaram menor pressão arterial sistólica máxima e pressão arterial diastólica máxima em relação ao genótipo ID ($P = 0,005$; $P = 0,043$, respectivamente). Não houve diferença significativa quanto à PAS máxima e à pressão arterial diastólica máxima entre os genótipos II e ID, denotando que a pressão arterial sistólica máxima e a pressão arterial diastólica máxima sejam menores em portadoras do genótipo DD em relação às portadoras do alelo I. O polimorfismo ADRA2B Del 301-303 também se associou à recuperação da frequência cardíaca após o teste ergométrico no sexo masculino (Tabela 32). Portadores do genótipo II apresentaram recuperação da frequência

cardíaca menor que portadores do genótipo ID ($P = 0,041$), sem diferenças entre os genótipos DD e ID.

Tabela 32. Associações entre o polimorfismo do gene ADRA2B DEL301-303 e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada

	Estimativa (Feminino/Masculino)	Valor P* (Feminino/Masculino)
Capacidade de exercício		
II	-0,152/0,612	0,605/0,062
DD	-0,041/0,180	0,922/0,723
Reserva cronotrópica		
II	-0,021/10,577	0,060/0,294
DD	-0,011/-4,486	0,126/0,721
PAD máxima		
II	-0,744/-1,451	0,544/0,321
DD	-3,587 /-0,265	0,043** /0,905
PAS máxima		
II	-3,411/3,857	0,183/0,260
DD	-10,484 /0,216	0,005** /0,966
Recuperação da FC		
II	3,043/ -6,050	0,193/ 0,041**
DD	1,295/-2,243	0,700/0,614
Recuperação da PAS		
II	-3,080/3,587	0,269/0,390
DD	-6,036/-5,195	0,134/0,375

PAD, Pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca. * Valor P para os genótipos II e DD versus o genótipo de referência ID. ** Associação com significância nominal ($P < 0,05$).

5.7. O teste ergométrico e os polimorfismos da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial.

Não houve associações significativas entre os polimorfismos eNOS 786 T>C e Glu298Asp com as variáveis do teste ergométrico estudadas (Tabela 33 e 34).

Tabela 33. Associações entre o polimorfismo do gene eNOS 786 T>C e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada

	Estimativa (Feminino/Masculino)	Valor P* (Feminino/Masculino)
Capacidade de exercício		
TT	-0,372/0,165	0,224/0,571
CC	0,791/0,576	0,123/0,137
Reserva cronotrópica		
TT	-0,012/-0,008	0,628/0,653
CC	-0,055/0,001	0,202/0,977
PAD máxima		
TT	1,476/1,052	0,245/0,425
CC	-0,744/-1,112	0,728/0,547
PAS máxima		
TT	-2,645/-2,799	0,335/0,366
CC	-2,248/-5,701	0,312/0,185
Recuperação da FC		
TT	0,995/2,710	0,674/0,300
CC	1,547/4,858	0,155/0,183
Recuperação da PAS		
TT	2,948/0,561	0,873/0,873
CC	-8,511/-2,329	0,618/0,618

PAD, Pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca. * Valor P para os genótipos II e DD versus o genótipo de referência ID

Tabela 34. Associações entre o polimorfismo do gene eNOS Glu298Asp e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada

	Estimativa (Feminino/Masculino)	Valor P* (Feminino/Masculino)
Capacidade de exercício		
GG	-0,377/-0,366	0,215/0,231
TT	-0,952/-0,894	0,050/0,068
Reserva cronotrópica		
GG	-0,026/-0,006	0,314/0,755
TT	0,001/-0,008	0,998/0,790
PAD máxima		
GG	-1,216/-0,288	0,349/0,829
TT	-3,148/4,023	0,127/0,076
PAS máxima		
GG	-2,774/-2,164	0,298/0,484
TT	3,102/-5,927	0,465/0,269
Recuperação da FC		
GG	-1,321/-0,124	0,727/0,964
TT	3,217/-1,743	0,603/0,706
Recuperação da PAS		
GG	-8,511/-0,281	0,902/0,938
TT	0,368/-8,882	0,600/0,182

PAD, Pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca. * Valor P para os genótipos II e DD versus o genótipo de referência ID

5.8. O teste ergométrico e o polimorfismo do receptor B2 da bradicinina

Não houve associações significativas entre o polimorfismo BK2R e as variáveis do teste ergométrico estudadas (Tabela 35).

Tabela 35. Associações entre o polimorfismo do gene BK2R e variáveis do teste ergométrico na análise multivariada

	Estimativa (Feminino/Masculino)	Valor P* (Feminino/Masculino)
Capacidade de exercício		
II	-0,267/-0,151	0,400/0,588
DD	-0,502/-0,573	0,142/0,148
Reserva cronotrópica		
II	-0,003/0,017	0,917/0,355
DD	-0,015/-0,003	0,607/0,899
PAD máxima		
II	-0,865/1,836	0,522/0,158
DD	1,056/0,503	0,458/0,771
PAS máxima		
II	5,174/0,810	0,064/0,795
DD	0,224/1,568	0,940/0,694
Recuperação da FC		
II	-4,787/-0,310	0,064/0,904
DD	-1,961/-3,633	0,464/0,291
Recuperação da PAS		
II	3,723/1,193	0,204/0,590
DD	1,933/-0,966	0,572/0,828

PAD, Pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica; FC, frequência cardíaca. * Valor P para os genótipos II e DD versus o genótipo de referência ID

5.9. A vasodilatação periférica e polimorfismos genéticos

Dentre os polimorfismos genéticos estudados, dois polimorfismos mostraram associações com a vasodilatação muscular do antebraço durante o exercício isométrico com diferenças entre os sexos.

O polimorfismo da ENOS 786 T>C influenciou significativamente a resposta do fluxo sanguíneo muscular do antebraço e da condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico no sexo feminino (Tabela 36). Em relação ao genótipo TC, portadoras do genótipo CC apresentaram um aumento significativamente maior do fluxo sanguíneo muscular ($P=0,033$) e da condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico ($P=0,043$), enquanto que entre as portadoras dos genótipos TC e TT esta diferença não foi observada. A

figura 6 representa a resposta vasodilatadora em relação ao polimorfismo 786 T>C em ambos os sexos.

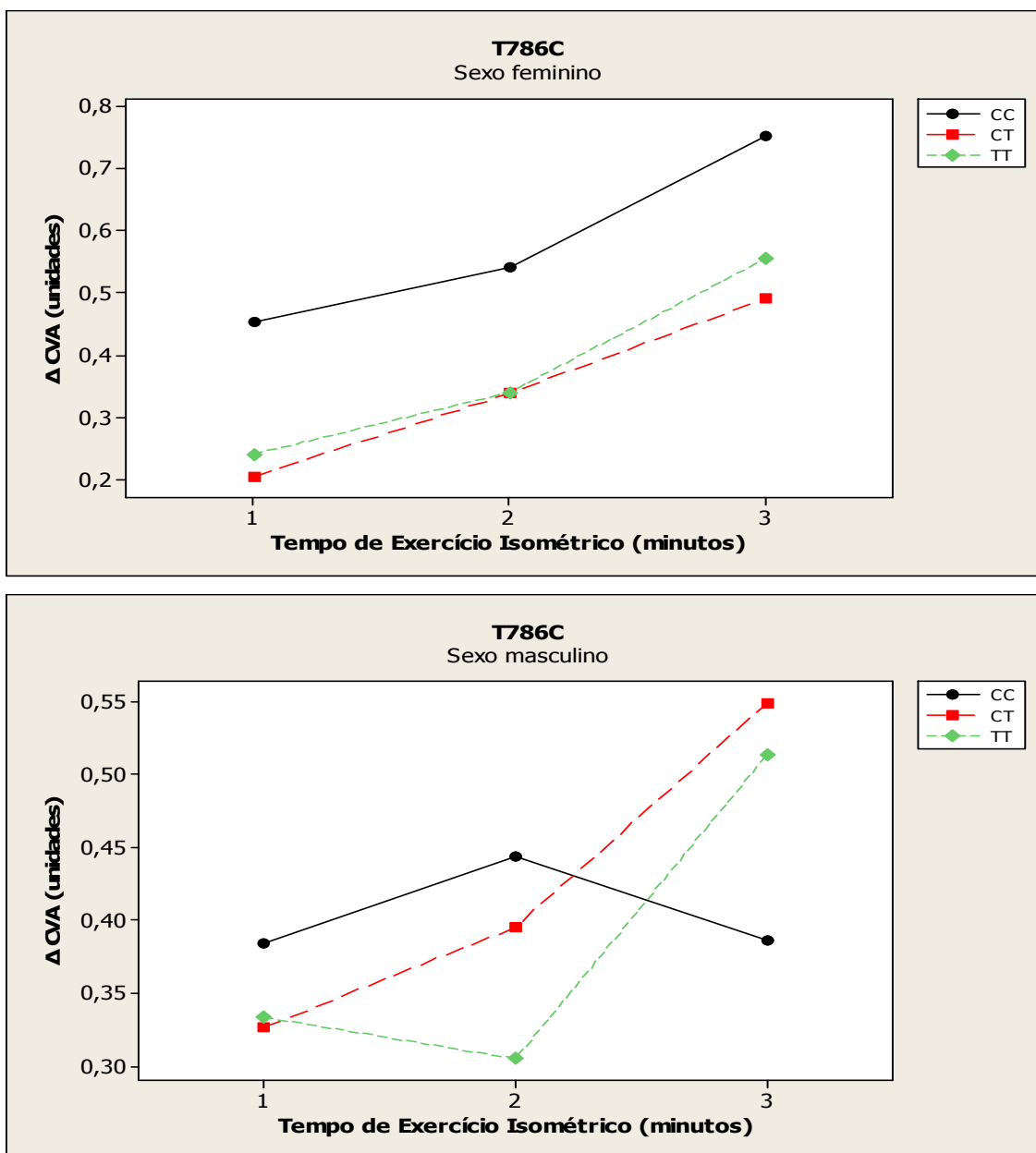


Figura 6. Variações da condutância vascular do antebraço (Δ CVA) durante 3 minutos de exercício isométrico para os genótipos do polimorfismo da eNOS 786 T>C em mulheres e homens

No sexo masculino, observamos influência do polimorfismo ADRA2A 1780 C>T sobre a resposta do fluxo sanguíneo muscular e da condutância vascular do antebraço durante o exercício isométrico (Tabela 37). Neste grupo, a variação do

fluxo sanguíneo muscular e da condutância vascular do antebraço foi significativamente menor em indivíduos portadores do genótipo CC em relação ao genótipo CT ($P = 0,025$ e $P = 0,025$, respectivamente), sem diferença significativa entre os genótipos TT e CT. A Figura 7 demonstra a resposta vasodilatadora em relação ao polimorfismo ADRA2A 1780 C>T em ambos os sexos.

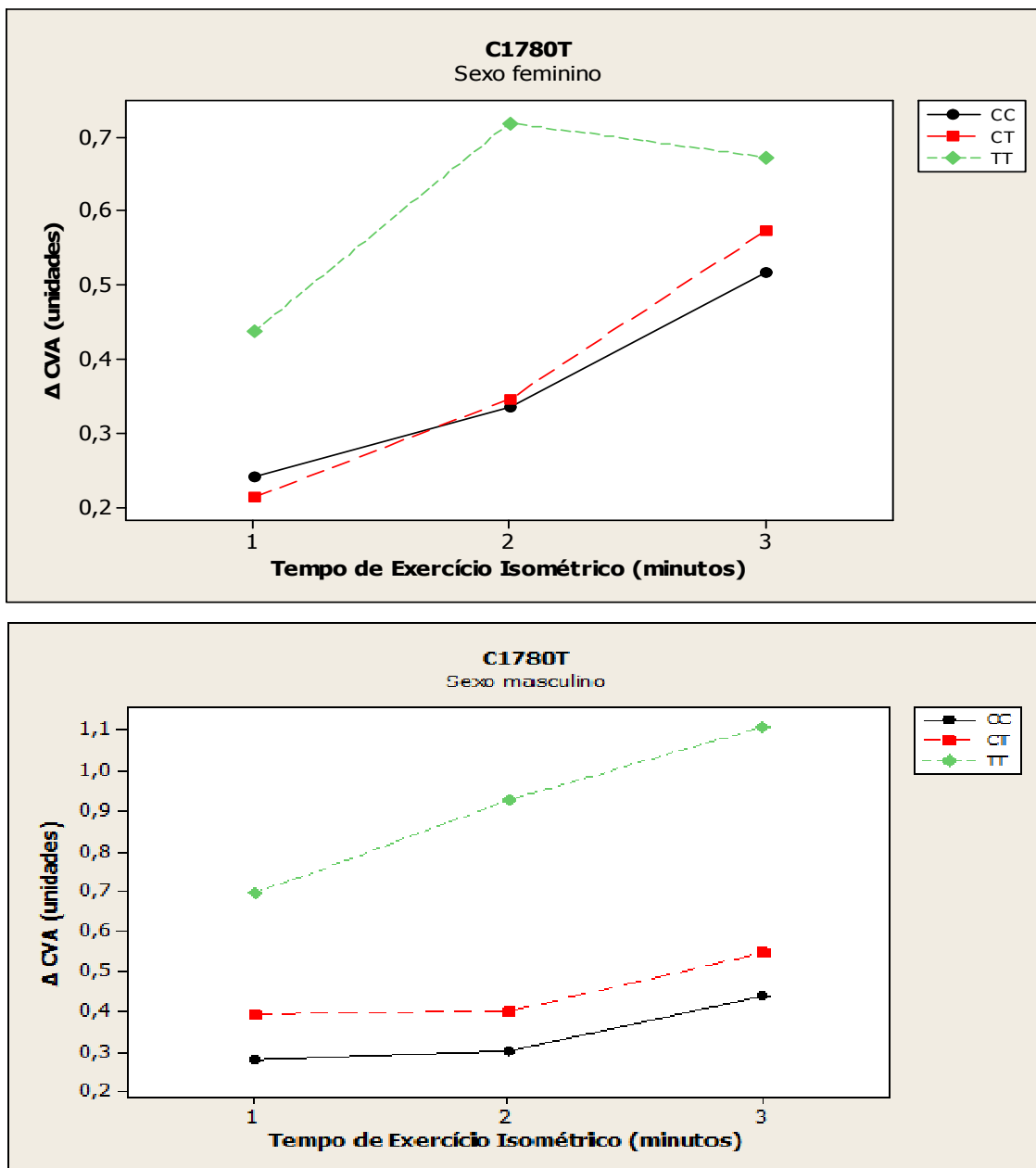


Figura 7. Variações da condutância vascular do antebraço (Δ CVA) durante 3 minutos de exercício isométrico para os genótipos do polimorfismo ADRA2A 1780 C>T em mulheres e homens

Tabela 36. Estimativa das associações entre o genótipo eNOS 786T>C e o aumento da condutância vascular e do fluxo sanguíneo muscular do antebraço durante o exercício isométrico no sexo feminino

	Estimativa	Valor-P
Condutância vascular do antebraço		
TT	0,04	0,552*
CC	0,22	0,043**
T	-0,23	0,026
Fluxo sanguíneo muscular do antebraço		
TT	-0,01	0,844*
CC	0,22	0,033**
T	-0,24	0,015

* Valor-P referente ao genótipo TT versus TC; ** Valor-P referente ao genótipo CC versus TC.

Tabela 37. Estimativa das associações entre o genótipo ADRA2A 1780 C>T e o aumento da condutância vascular e do fluxo sanguíneo muscular do antebraço durante o exercício isométrico no sexo masculino

	Estimativa	Valor-P
Condutância vascular do antebraço		
CC	-0,18	0,028*
TT	0,47	0,025**
C	-0,42	0,036
Fluxo sanguíneo muscular do antebraço		
CC	-0,16	0,077*
TT	0,51	0,025**
C	-0,45	0,025

* Valor-P referente ao genótipo CC versus CT; ** Valor-P referente ao genótipo TT versus CT.

6 Discussão

6.1. Resposta cardiovascular ao teste ergométrico e a vasodilatação periférica

As correlações lineares entre as respostas estudadas durante o teste ergométrico e a vasodilatação do antebraço induzida pelo exercício foram baixas em ambos os sexos, com as maiores correlações observadas entre a reserva cronotrópica e o aumento do fluxo sanguíneo e da condutância vascular do antebraço no sexo masculino. Estes dados sugerem que a relação entre a vasodilatação muscular induzida pelo exercício e as repostas durante o teste ergométrico possam ter pouco impacto na variação do desempenho cardiovascular ao exercício na população estudada.

Na análise multivariada, observamos ausência de associações significativas entre o desempenho cardiovascular durante o teste ergométrico e a vasodilatação periférica estimada pelo aumento da área sob a curva da condutância vascular do antebraço. Estes dados diferem de estudos prévios que demonstraram associações entre a vasodilatação fluxo-mediada do antebraço e variáveis cardiovasculares do teste ergométrico como a capacidade de exercício, a pressão arterial e a frequência cardíaca durante ou após o esforço físico [Kuvin *et al.*, 2001; Patel *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2004; Patel *et al.*, 2005; Heffernan *et al.*, 2009, Hodges *et al.*, 2010]. Esta divergência entre o nosso estudo e outros da literatura suscita a hipótese de que os mecanismos envolvidos na vasodilatação reativa (pós-isquemia do membro estudado) possam ser mais relevantes para a determinação da resposta cardiovascular ao exercício do que a vasodilatação ativa (induzida por aumento da demanda metabólica). A diferença entre hiperemia reativa e hiperemia ativa foi observada em um estudo que avaliou a função endotelial com ambos os métodos, sugerindo que o *shear stress* sobre a superfície endotelial e a liberação de substâncias dependentes do endotélio possa diferir quanto ao estímulo vasodilatador utilizado, seja induzido por aumento do metabolismo ou reacional à oclusão do vaso [Padilla *et al.*, 2006]. Visto a grande heterogeneidade na avaliação da vasodilatação periférica, os nossos dados podem contribuir para uma melhor análise dos métodos e estímulos a serem utilizados para o estudo da reatividade vascular periférica.

A capacidade de exercício, assim como o comportamento da pressão arterial e da frequência cardíaca durante o exercício, é influenciada por mecanismos complexos, com interações entre os sistemas cardiovascular, respiratório, muscular e neuro-humoral [Middlekauff, 2005]. Devido a estas múltiplas interações, é possível que em nossa amostra a capacidade de vasodilatação periférica não tenha sido um fator determinante da capacidade de exercício, mesmo considerando as diferenças relativas à avaliação da reatividade vascular entre o nosso estudo com outros da literatura. De fato, como o consumo máximo de oxigênio durante o exercício aeróbico envolve menos da metade da musculatura corporal total, é possível que a capacidade funcional seja mais limitada pelo débito cardíaco máximo do que por fatores periféricos [Fleg *et al.*, 2000].

Como nossa amostra foi representada por indivíduos assintomáticos e sem doença cardiovascular estabelecida, diferentemente de pacientes com insuficiência cardíaca, nos quais fatores vasoconstritores periféricos parecem desempenhar um papel importante na capacidade funcional, nossos dados permitem a inferência que outros fatores centrais nesta população, como o desempenho cardíaco (aumento do débito cardíaco) e a função respiratória sejam mais significativos para a resposta cardiovascular ao exercício do que a capacidade de vasodilatação periférica. Entretanto, também devemos considerar que, como citado anteriormente, existe a possibilidade de que o método de avaliação da vasodilatação muscular utilizado em nosso estudo, não tenha refletido de forma acurada os mecanismos vasodilatadores presentes durante o exercício aeróbico como o realizado durante o teste ergométrico em esteira rolante.

6.2. Resposta cardiovascular ao teste ergométrico e os polimorfismos genéticos

O polimorfismo Arg347Cys do gene ADRA1A (rs1048101, previamente descrito como Arg492Cys) influenciou a resposta da pressão arterial sistólica máxima durante o teste ergométrico no sexo masculino. O polimorfismo

Arg347Cys mostrou associações significativas com o controle autonômico em indivíduos saudáveis [Iacoviello *et al.*, 2006; Matsunaga *et al.*, 2007] e com a resposta a anti-hipertensivos em pacientes hipertensos [Jiang *et al.*, 2005]. Estes dados sugerem que, mesmo sem evidência de que o polimorfismo Arg347Cys exerça influência sobre a função deste receptor *in vitro* [Shibata *et al.*, 1996], esta variante possa ser funcionalmente importante na regulação do sistema nervoso autonômico e da homeostasia *in vivo*. Em um estudo prévio com 1500 brasileiros, o alelo Cys associou-se a maiores níveis de pressão arterial em uma subpopulação de indivíduos jovens (< 45 anos) e fisicamente ativos, mas não na população geral, levantando os autores do estudo a formularem a hipótese que este polimorfismo poderia ser relevante para a interação entre a pressão arterial e sua adaptação ao exercício neste subgrupo [Freitas *et al.*, 2008]. Nosso estudo sugere que o polimorfismo Arg347Cys possa ser um marcador da pressão arterial sistólica durante o exercício em homens sem doença cardiovascular estabelecida.

O polimorfismo 1780 C>T do gene ADRA2A (rs553668) associou-se à pressão arterial sistólica máxima e à pressão diastólica máxima durante o teste ergométrico. O aumento exacerbado da pressão arterial durante o exercício é um importante preditor de eventos cardiovasculares em indivíduos portadores ou não de hipertensão arterial sistêmica conforme demonstrado em estudos prévios [Lewis *et al.*, 2008]. Adicionalmente, existem evidências de que o receptor adrenérgico alfa 2A contribua para o controle de inúmeras respostas fisiológicas como o tônus vascular, a secreção de insulina pelas células pancreáticas e metabolismo dos adipócitos [Rosengren *et al.*, 2010]. Finley e colaboradores demonstraram, em uma amostra de indivíduos saudáveis, que portadores do alelo T do polimorfismo rs553668 apresentavam responsividade autonômica exacerbada ao estresse em comparação indivíduos homocigotos CC, o que poderia resultar em maior risco de hipertensão arterial neste subgrupo [Finley *et al.*, 2004]. Um estudo com 227 americanos mostrou que o polimorfismo rs553668 associou-se à hipertensão arterial em indivíduos de etnia afro-americana, mas não em indivíduos caucasianos [Lockette *et al.*, 1995]. Em nosso estudo, apesar da predominância de indivíduos de etnia caucasiana, observamos que portadores do

alelo T parecem possuir maiores valores de pressão arterial durante o exercício em relação aos não portadores deste alelo. A este fato devemos levar em conta as limitações inerentes à classificação de etnias na população brasileira, na qual temos uma forte componente de miscigenação. Em um grande estudo realizado em uma população de indivíduos caucasianos de origem escandinava, o polimorfismo ADRA2A rs553668 associou-se à expressão exacerbada dos receptores adrenérgicos alfa₂A, secreção atenuada de insulina e maior risco de diabetes melito tipo II [Rosengren *et al.*, 2010]. Este estudo sugeriu que o polimorfismo ADRA2A rs553668 possa ser um importante marcador do risco de diabetes melito e conseqüentemente do risco cardiovascular na população estudada. Nossos dados sugerem adicionalmente que variantes genéticas do receptor adrenérgico alfa 2A e em particular o polimorfismo ADRA2A rs553668 possam estar envolvidos com a regulação da pressão arterial durante o exercício. Neste contexto, futuros estudos com este polimorfismo são necessários para elucidar seu papel na modulação do exercício e como possível marcador de risco cardiovascular.

O polimorfismo Ins/Del 301-303 do gene ADRA2B (rs28365031) associou-se no sexo feminino à pressão arterial sistólica máxima e pressão arterial diastólica máxima e no sexo masculino à recuperação da frequência cardíaca. Indivíduos portadores do genótipo DD apresentaram menores valores de pressão arterial sistólica máxima e pressão arterial diastólica máxima, e maior recuperação da frequência cardíaca em relação aos portadores do alelo I. Ao nosso conhecimento atual, nenhum estudo avaliou o impacto deste polimorfismo nas respostas ao exercício e em especial ao teste ergométrico. Estudos que avaliaram o polimorfismo de Ins/Del 301-303 sugeriram maior risco de eventos cardiovasculares em portadores do alelo D em relação aos portadores do alelo I [Snapir *et al.* 2001; Laukkanen *et al.* 2009], mas a relação com fatores como hipertensão arterial sistêmica não foi estabelecida. Em nosso estudo, a presença do alelo D não se associou a uma resposta hemodinâmica ou cronotrópica desfavorável, e ao contrário, associou-se à menor elevação da pressão arterial durante o esforço e aumento da recuperação da frequência cardíaca. Estes dados

sugerem que, em nossa amostra, esta variante possa estar relacionada à regulação do exercício e que o impacto cardiovascular do alelo D não seja adverso como em outras populações estudadas.

6.3. Análise do impacto dos polimorfismos genéticos na resposta cardiovascular ao teste ergométrico

A influência dos polimorfismos genéticos quanto à resposta cardiovascular ao teste ergométrico foi estratificada entre os sexos em função da diferença de desempenho apresentada por homens e mulheres. Com esta estratificação, observamos que as associações entre os polimorfismos e variáveis do teste ergométrico diferem em sua maioria quanto ao sexo. Estas diferenças podem estar relacionadas a inúmeros fatores como a diferença do tamanho da amostra e diferenças das funções das vias fisiológicas estudadas entre homens e mulheres. Diferenças entre os sexos quanto à sensibilidade dos receptores adrenérgicos e sua resposta ao estímulo catecolaminérgico foram descritas em estudos prévios [Luzier *et al.*, 1998; Kneale *et al.*, 2000]. Schmitt e colaboradores demonstraram que, em relação às mulheres, homens apresentam maior redução da pressão arterial ao bloqueio dos receptores alfa-adrenérgicos com fentolamina, o que denota uma diferença no controle autonômico da pressão arterial entre os sexos [Schmitt *et al.* 2010]. A expressão e função do gene da sintetase do óxido nítrico também diferiram entre homens e mulheres em dois estudos prévios [Chen *et al.*, 2004; Periaswamy *et al.*, 2008].

Observamos também que as associações entre os polimorfismos do sistema alfa-adrenérgico foram relacionadas principalmente à resposta da pressão arterial ao exercício, com exceção da associação entre o polimorfismo Del 301-303 com a recuperação da frequência cardíaca. A pressão arterial sistêmica é um fenótipo complexo com modulação poligênica [Ehret *et al.*, 2011]. Em nosso estudo os polimorfismos ADRA1A Argy347Cys, ADRA2A C1780T e ADRA2B Del 301-303 apresentaram associações significativas com a pressão arterial sistólica e diastólica durante o exercício. Estes marcadores genéticos, além de pertencerem a vias biológicas importantes na regulação da pressão arterial, também podem

estar em desequilíbrio de ligação com outras variantes que potencialmente possam modular este fenótipo. Portanto, estes polimorfismos genéticos surgem como candidatos à modulação da resposta cardiovascular ao exercício.

6.4. A capacidade vasodilatadora periférica e os polimorfismos genéticos

A análise da influência dos polimorfismos genéticos estudados mostrou que estas variantes interferem tanto com a resposta do fluxo sanguíneo muscular do antebraço como da condutância vascular do antebraço, o que sugere que a variação do fluxo sanguíneo estimulada pelo exercício isométrico seja mais importante do que a variação da pressão arterial média, já que a condutância vascular do antebraço é uma função da relação entre o fluxo sanguíneo e a pressão arterial média estimada. Assim como as variáveis do teste ergométrico, notamos que a modulação genética é diferente entre os sexos, sugerindo que a influência de marcadores genéticos também possa depender de fatores intrínsecos a cada sexo.

No sexo feminino, observamos que o polimorfismo da eNOS 786 T>C influenciou a vasodilatação periférica ao exercício isométrico, com o genótipo CC apresentando um aumento maior do fluxo sanguíneo muscular e da condutância vascular do antebraço em relação aos portadores do alelo T. Negrão e colaboradores mostraram achados semelhantes em uma população de indivíduos jovens e fisicamente ativos, nos quais a presença do genótipo TT associou-se a um aumento atenuado da capacitância vascular do antebraço ao exercício isométrico em relação aos genótipos CC + TC [Negrão *et al.*, 2010]. Rossi e colaboradores observaram também uma associação entre a vasodilatação do antebraço induzida por acetilcolina e o polimorfismo eNOs 786 T>C em uma população de pacientes predominantemente hipertensos, no entanto, demonstrando maior resposta vasodilatadora entre indivíduos portadores do genótipo TT em relação aos portadores do alelo C [Rossi *et al.*, 2003]. Apesar de estudos demonstrarem que o alelo 786C esteja relacionado à menor expressão da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial e menor produção de óxido nítrico

[Dosenko *et al.*, 2006; Nakayama *et al.*, 1999], em nosso estudo, portadores do genótipo CC apresentaram maior vasodilatação ao exercício que portadores do alelo T. Uma possível hipótese para este fato seria que a depressão da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial em portadores do genótipo CC possa resultar em um aumento da ativação de outras vias vasodilatadoras como prostaglandinas e fator hiperpolarizante endotelial ou redução de vasoconstritores como angiotensina II e endotelinas.

Diferente dos resultados encontrados por Dias e colaboradores [2009], não observamos uma associação significativa entre o polimorfismo eNOS Glu298asp e a vasodilatação muscular do antebraço. Dias e colaboradores analisaram a relação entre a vasodilatação muscular do antebraço induzida pelo exercício isométrico (manobra de *handgrip*) durante a pletismografia de oclusão venosa e o polimorfismo genético eNOS Glu298Asp em 33 indivíduos jovens saudáveis. A resposta da condutância vascular ao exercício foi significativamente menor no genótipo Asp/Asp em relação aos genótipos Glu/Asp e Glu/Glu. Em nosso estudo, o polimorfismo da eNOS Glu298Asp foi avaliado em conjunto com outras variantes genéticas e outras co-variáveis demográficas e laboratoriais, fatores que podem ter influenciado a ausência de associação deste polimorfismo com a capacidade vasodilatadora periférica. Observamos também que nossa população, apesar de também não apresentar doença cardiovascular estabelecida, possuía maior faixa etária e prevalência de sobrepeso e obesidade em relação ao estudo de Dias e colaboradores.

Nos homens, observamos que o polimorfismo ADRA2A 1780 C>T (rs553668) influenciou a vasodilatação periférica ao exercício isométrico. Indivíduos portadores do genótipo TT apresentaram uma maior vasodilatação do que portadores do alelo C. Kurnik e colaboradores mostraram em um estudo com 73 indivíduos saudáveis que a presença da variante do polimorfismo ADRA2A rs553668, dentre nove polimorfismos genotipados do receptor alfa₂A, associou-se à maior redução da pressão arterial sistólica após infusão do agonista alfa 2A dexmedetomidina, sugerindo maior resposta do receptor alfa 2A ao estímulo neste grupo [Kurnik *et al.*, 2011]. Em células germinativas, haplótipos contendo a

variante do polimorfismo rs553668 associaram-se à maior transcrição de m-RNA. Indivíduos portadores da variante rs553668 também apresentaram maior expressão dos receptores α_2A na membrana celular das células pancreáticas e menor secreção de insulina [Rosengren *et al.*, 2010]. Portanto, o aumento da expressão e da sensibilidade a agonistas dos receptores adrenérgicos α_2A em indivíduos homocigotos para o alelo T é um possível mecanismo relacionado ao aumento da vasodilatação neste grupo. É interessante notar em nosso estudo que apesar da maior vasodilatação ao exercício isométrico, indivíduos portadores do genótipo TT apresentaram um aumento maior da pressão arterial sistólica e da pressão arterial diastólica durante o exercício aeróbico, o que levanta dúvidas sobre o real impacto da variante ADRA2A 1780 C>T sobre a saúde cardiovascular de indivíduos sem doença cardíaca estabelecida.

6.5. Limitações do estudo

O desenho transversal do estudo limita a realização de inferências sobre relações de causa e efeito entre a capacidade vasodilatadora periférica e a resposta cardiovascular ao exercício. Apesar da maioria dos indivíduos estudados serem sedentários, sem a inclusão de atletas, nós não conseguimos, neste estudo, caracterizar de forma adequada a regularidade e frequência de atividade física praticada por cada participante. Outra limitação do estudo foi a diferença de tempo entre a realização do teste ergométrico e da pletismografia de oclusão venosa, o que possibilita que fatores externos não mensuráveis neste estudo possam ter influenciado a associação entre as variáveis destes dois métodos, apesar de todos os participantes do estudo encontrarem-se em condições clínicas estáveis.

Nós utilizamos o estudo dos membros superiores para avaliar a vasodilatação periférica, enquanto as variáveis do teste ergométrico são relacionadas ao exercício dos membros inferiores. Adicionalmente, o exercício utilizado para induzir a vasodilatação do antebraço foi isométrico e envolveu somente um membro, enquanto durante o teste ergométrico mais de um sítio muscular está envolvido no desempenho do exercício. Entretanto, estudos prévios

demonstraram que a vasodilatação induzida pelo exercício isométrico pode ser influenciada pelo treinamento físico aeróbico [Ribeiro *et al.*, 2005; Soares-Miranda *et al.*, 2011]. Adicionalmente, estudos prévios demonstraram que a realização do exercício nos membros inferiores está associada à vasodilatação reflexa dos membros superiores. Em um estudo com 12 indivíduos aparentemente saudáveis, a realização de exercícios aeróbicos com os membros inferiores aumentou significativamente o fluxo sanguíneo na artéria braquial no membro superior inativo [Thijssen *et al.*, 2009]. Além disso, a avaliação da reatividade vascular nos membros superiores tem sido amplamente utilizada como marcador da função vascular, endotelial e com valor prognóstico cardiovascular em diversos estudos [Lind *et al.*, 2002; Yeboah *et al.*, 200; Raiko *et al.*, 2010; Yeboah *et al.*, 2011].

Nós encontramos associações significativas nominais entre as variantes genéticas estudadas e variáveis do teste ergométrico e da vasodilatação muscular do antebraço que devem ser interpretadas com cautela. Visto a possibilidade de falsos positivos associados à realização de múltiplos testes, os nossos achados, mais do que definir uma relação definitiva entre os polimorfismos genéticos e os fenótipos estudados, geram hipóteses que idealmente necessitam ser validadas em outras populações.

7 Conclusões

A resposta cardiovascular ao teste ergométrico não se associou à capacidade vasodilatadora periférica em indivíduos sem doença cardíaca estabelecida.

Em relação à resposta cardiovascular ao teste ergométrico, o polimorfismo ADRA1A Arg347Cys influenciou a pressão arterial sistólica máxima no sexo masculino, o polimorfismo ADRA2A 1780 C>T influenciou a pressão arterial sistólica máxima em ambos os sexos e a pressão arterial diastólica máxima no sexo masculino e o polimorfismo ADRA2B Del 301-303 influenciou a pressão arterial sistólica máxima e a pressão arterial diastólica máxima no sexo feminino e a recuperação da frequência cardíaca no sexo masculino. A vasodilatação muscular do antebraço ao exercício isométrico foi influenciada pelos polimorfismos eNOS 786 T>C no sexo feminino e ADRA2A 1780 C>T no sexo masculino.

Estes dados sugerem que polimorfismos genéticos associados aos receptores alfa-adrenérgicos e à enzima sintetase do óxido nítrico endotelial possam modular a resposta cardiovascular ao exercício e a capacidade vasodilatadora periférica. Variantes dos genes dos receptores alfa-adrenérgicos, em especial, parecem ser potenciais marcadores da resposta da pressão arterial durante o exercício.

8. ANEXOS

Anexo A. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo ADRA1A Arg347Cys no sexo masculino

Variável	CC		CT		TT	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	10,70	1,97	10,33	1,74	10,64	1,95
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,89	0,14	0,90	0,13	0,91	0,10
Depressão ST DII (mm)	0,08	0,29	0,20	0,51	0,19	0,50
Depressão ST V ₅ (mm)	0,03	0,15	0,12	0,39	0,05	0,15
PAS máxima (mm Hg)	176,56	20,56	181,17	20,51	186,98	19,77
PAD máxima (mm Hg)	86,34	10,42	88,32	10,92	88,54	9,61
RPAS 1º minuto (mm Hg)	10,56	12,05	9,59	15,53	14,16	16,83
RPAS 2º minuto (mm Hg)	18,91	16,60	19,77	18,31	21,84	17,41
RPAS 3º minuto (mm Hg)	29,85	16,34	33,53	17,28	33,10	15,30
FC máxima (b.p.m)	166,13	16,60	166,13	15,32	167,61	14,23
RFC 1º minuto (b.p.m)	42,31	16,89	37,77	15,88	44,17	19,22
RFC 2º minuto (b.p.m)	56,70	16,46	54,14	14,76	56,39	16,24
RFC 3º minuto (b.p.m)	62,75	15,40	60,12	13,70	62,50	14,79

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca.

Anexo B. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo ADRA1A Arg347Cys no sexo feminino

Variável	CC		CT		TT	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	8,86	1,80	8,86	1,96	8,88	2,06
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,86	0,14	0,85	0,17	0,85	0,14
Depressão ST DII (mm)	0,27	0,51	0,14	0,35	0,20	0,51
Depressão ST V ₅ (mm)	0,17	0,42	0,10	0,29	0,10	0,30
PAS máxima (mm Hg)	159,78	19,05	162,76	22,17	164,16	18,11
PAD máxima (mm Hg)	83,78	9,79	83,33	10,12	84,38	10,23
RPAS 1º minuto (mm Hg)	8,23	11,87	8,02	11,94	12,11	13,89
RPAS 2º minuto (mm Hg)	20,12	14,57	19,59	14,72	22,92	12,93
RPAS 3º minuto (mm Hg)	28,92	16,53	29,15	17,02	32,55	13,29
FC máxima (b.p.m)	161,35	17,18	161,67	17,14	161,79	19,74
RFC 1º minuto (b.p.m)	42,80	14,93	41,44	14,96	42,83	14,21
RFC 2º minuto (b.p.m)	57,66	14,94	57,54	14,51	57,85	13,17
RFC 3º minuto (b.p.m)	62,56	14,87	62,93	14,35	63,62	15,44

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca.

Anexo C. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo ADRA 2A 1780 C>T no sexo masculino

Variável	CC		CT		TT	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	10,51	1,92	10,50	1,87	10,53	1,02
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,89	0,14	0,92	0,10	0,86	0,18
Depressão ST DII (mm)	0,15	0,43	0,18	0,49	0,14	0,45
Depressão ST V ₅ (mm)	0,07	0,30	0,09	0,29	0,05	0,15
PAS máxima (mm Hg)	181,59	21,19	179,96	19,75	181,82	21,83
PAD máxima (mm Hg)	87,99	11,25	86,85	9,16	92,73	10,09
RPAS 1º minuto (mm Hg)	10,01	15,23	11,88	13,20	15,45	21,15
RPAS 2º minuto (mm Hg)	19,15	18,04	20,90	15,45	24,00	25,03
RPAS 3º minuto (mm Hg)	32,58	17,45	31,76	15,00	32,00	17,51
FC máxima (b.p.m)	165,70	15,66	168,49	13,89	158,91	22,57
RFC 1º minuto (b.p.m)	40,14	17,16	41,63	17,42	39,27	16,44
RFC 2º minuto (b.p.m)	54,50	15,63	57,26	15,32	53,00	17,64
RFC 3º minuto (b.p.m)	60,35	13,75	64,12	14,91	55,60	17,86

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca.

Anexo D. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo ADRA 2A 1780 C>T no sexo feminino

Variável	CC		CT		TT	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	8,70	1,82	9,08	2,06	9,72	2,29
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,84	0,16	0,86	0,14	0,90	0,08
Depressão ST DII (mm)	0,19	0,42	0,21	0,48	0,15	0,38
Depressão ST V ₅ (mm)	0,11	0,34	0,13	0,31	0,12	0,42
PAS máxima (mm Hg)	160,54	19,68	165,19	21,89	162,31	20,88
PAD máxima (mm Hg)	82,94	9,46	84,68	11,14	86,92	8,55
RPAS 1º minuto (mm Hg)	8,47	10,96	9,56	14,58	10,00	16,58
RPAS 2º minuto (mm Hg)	18,93	12,64	23,28	16,54	22,22	19,86
RPAS 3º minuto (mm Hg)	27,75	15,06	32,89	17,56	38,00	19,32
FC máxima (b.p.m)	159,88	18,14	163,64	16,54	171,46	12,83
RFC 1º minuto (b.p.m)	42,24	14,24	41,34	15,81	46,22	15,98
RFC 2º minuto (b.p.m)	57,65	14,85	57,06	13,45	61,67	13,25
RFC 3º minuto (b.p.m)	62,62	15,50	63,07	13,17	66,70	11,96

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca.

Anexo E. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo ADRA2B DEL 301-303 no sexo masculino

Variável	II		ID		DD	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	10,66	1,89	10,23	1,71	10,25	2,09
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,91	0,12	0,88	0,15	0,91	0,11
Depressão ST DII (mm)	0,15	0,42	0,18	0,49	0,12	0,51
Depressão ST V ₅ (mm)	0,08	0,30	0,08	0,29	0,04	0,14
PAS máxima (mm Hg)	181,20	19,47	181,48	20,96	173,93	24,67
PAD máxima (mm Hg)	87,25	10,05	90,05	9,63	84,93	14,40
RPAS 1º minuto (mm Hg)	11,50	14,06	13,70	17,04	1,11	10,23
RPAS 2º minuto (mm Hg)	21,54	17,35	19,22	19,13	13,89	14,61
RPAS 3º minuto (mm Hg)	34,07	15,13	30,24	19,91	23,68	16,06
FC máxima (b.p.m)	167,21	14,63	165,51	16,37	166,11	16,41
RFC 1º minuto (b.p.m)	39,89	15,97	43,43	21,52	38,90	9,80
RFC 2º minuto (b.p.m)	54,72	15,26	57,34	17,83	54,62	12,04
RFC 3º minuto (b.p.m)	61,31	13,86	61,77	17,33	61,55	12,23

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca

Anexo F. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo do gene ADRA2B DEL 301-303 no sexo feminino

Variável	II		ID		DD	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	8,81	1,95	9,19	2,05	8,58	1,50
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,85	0,15	0,86	0,15	0,83	0,16
Depressão ST DII (mm)	0,17	0,42	0,18	0,39	0,26	0,52
Depressão ST V ₅ (mm)	0,09	0,32	0,13	0,28	0,18	0,33
PAS máxima (mm Hg)	162,77	19,69	163,92	22,34	158,35	20,91
PAD máxima (mm Hg)	83,96	10,11	83,32	9,95	82,25	10,00
RPAS 1º minuto (mm Hg)	8,68	12,29	10,70	14,15	6,88	9,40
RPAS 2º minuto (mm Hg)	21,03	15,33	20,61	13,18	17,76	11,20
RPAS 3º minuto (mm Hg)	29,74	16,32	32,49	16,25	25,80	13,97
FC máxima (b.p.m)	162,15	18,44	161,18	16,19	158,45	15,59
RFC 1º minuto (b.p.m)	42,84	15,33	41,72	15,06	40,10	11,77
RFC 2º minuto (b.p.m)	58,27	14,35	57,36	15,01	54,69	12,94
RFC 3º minuto (b.p.m)	63,73	14,97	62,88	15,37	58,55	11,03

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca

Anexo G. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo eNOS Glu298Asp no sexo masculino

Variável	GG		GT		TT	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	10,62	1,75	10,42	2,10	10,27	1,24
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,90	0,12	0,90	0,15	0,93	0,11
Depressão ST DII (mm)	0,13	0,39	0,21	0,55	0,11	0,32
Depressão ST V ₅ (mm)	0,05	0,20	0,12	0,38	0,05	0,23
PAS máxima (mm Hg)	180,27	19,81	182,45	21,07	178,50	24,12
PAD máxima (mm Hg)	86,45	11,51	88,76	9,29	91,50	8,13
RPAS 1º minuto (mm Hg)	11,35	14,76	11,04	16,08	7,50	8,66
RPAS 2º minuto (mm Hg)	21,54	16,30	19,57	19,63	10,77	12,56
RPAS 3º minuto (mm Hg)	32,95	15,96	33,34	17,41	21,15	13,25
FC máxima (b.p.m)	167,22	16,38	165,21	15,17	167,40	9,84
RFC 1º minuto (b.p.m)	41,22	16,28	39,47	17,03	42,60	23,80
RFC 2º minuto (b.p.m)	56,24	16,27	53,98	14,27	56,88	18,09
RFC 3º minuto (b.p.m)	62,26	14,97	60,22	13,99	61,54	13,61

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca.

Anexo H. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo eNOS Glu298Asp no sexo feminino

Variável	GG		GT		TT	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	8,76	1,91	8,96	1,83	8,98	2,40
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,86	0,16	0,84	0,15	0,87	0,12
Depressão ST DII (mm)	0,22	0,50	0,14	0,34	0,30	0,49
Depressão ST V ₅ (mm)	0,13	0,39	0,08	0,25	0,22	0,32
PAS máxima (mm Hg)	162,69	21,35	161,02	20,40	165,00	17,26
PAD máxima (mm Hg)	84,44	10,29	83,22	10,00	82,04	8,80
RPAS 1º minuto (mm Hg)	7,27	13,23	9,50	11,62	12,63	11,47
RPAS 2º minuto (mm Hg)	19,96	15,55	19,85	13,48	24,74	13,17
RPAS 3º minuto (mm Hg)	29,70	16,14	28,78	16,46	34,50	15,12
FC máxima (b.p.m)	161,34	18,58	161,73	17,37	162,30	14,56
RFC 1º minuto (b.p.m)	42,62	15,59	42,39	13,92	38,96	15,58
RFC 2º minuto (b.p.m)	58,31	15,79	57,14	13,38	57,50	13,59
RFC 3º minuto (b.p.m)	64,01	14,83	62,16	14,61	62,48	14,58

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca

Anexo I. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo eNOS 786 T>C no sexo masculino

Variável	TT		CT		CC	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	10,63	1,65	10,43	1,98	10,22	2,25
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,90	0,12	0,89	0,13	0,90	0,14
Depressão ST DII (mm)	0,15	0,41	0,20	0,54	0,07	0,26
Depressão ST V ₅ (mm)	0,06	0,21	0,11	0,37	0,03	0,19
PAS máxima (mm Hg)	180,86	19,50	182,92	21,33	174,19	21,26
PAD máxima (mm Hg)	86,85	11,44	88,93	9,67	87,10	9,73
RPAS 1º minuto (mm Hg)	12,14	15,65	10,49	15,68	7,60	9,26
RPAS 2º minuto (mm Hg)	23,35	17,02	16,61	18,51	17,60	15,35
RPAS 3º minuto (mm Hg)	33,33	15,74	32,91	17,26	26,09	16,99
FC máxima (b.p.m)	167,85	14,81	165,06	16,02	164,74	14,98
RFC 1º minuto (b.p.m)	42,34	17,09	38,65	17,63	40,59	16,20
RFC 2º minuto (b.p.m)	56,28	15,73	54,18	15,72	55,61	14,79
RFC 3º minuto (b.p.m)	61,36	14,01	60,59	14,74	64,08	15,19

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca

Anexo J. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo eNOS 786T>C no sexo feminino

Variável	TT		CT		CC	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	9,08	1,83	8,94	2,06	8,95	1,87
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,86	0,15	0,84	0,15	0,85	0,18
Depressão ST DII (mm)	0,17	0,40	0,21	0,45	0,23	0,49
Depressão ST V ₅ (mm)	0,09	0,24	0,15	0,43	0,12	0,29
PAS máxima (mm Hg)	161,41	20,49	164,26	21,55	157,60	13,93
PAD máxima (mm Hg)	84,13	10,74	83,50	9,20	81,20	8,81
RPAS 1º minuto (mm Hg)	7,33	11,43	10,45	12,69	10,77	16,56
RPAS 2º minuto (mm Hg)	19,48	12,82	21,09	15,58	22,43	16,25
RPAS 3º minuto (mm Hg)	29,43	14,22	31,35	18,26	23,57	13,36
FC máxima (b.p.m)	162,64	17,40	160,28	18,14	162,62	16,64
RFC 1º minuto (b.p.m)	42,07	15,15	42,20	15,11	40,82	11,53
RFC 2º minuto (b.p.m)	57,31	14,44	58,17	14,35	56,76	14,53
RFC 3º minuto (b.p.m)	63,17	15,12	62,42	14,41	63,53	13,32

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca.

Anexo L. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo BK2R no sexo masculino

Variável	II		ID		DD	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	10,63	1,99	10,44	1,85	10,43	1,64
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,90	0,13	0,90	0,12	0,89	0,15
Depressão ST DII (mm)	0,14	0,43	0,17	0,50	0,16	0,38
Depressão ST V ₅ (mm)	0,09	0,34	0,08	0,28	0,05	0,19
PAS máxima (mm Hg)	181,91	19,92	179,61	20,20	183,00	23,09
PAD máxima (mm Hg)	87,98	9,65	87,35	10,11	88,36	12,91
RPAS 1º minuto (mm Hg)	11,32	15,35	11,08	14,51	9,85	15,40
RPAS 2º minuto (mm Hg)	22,03	18,29	18,75	16,31	18,64	18,84
RPAS 3º minuto (mm Hg)	33,37	15,03	32,13	17,66	30,63	17,26
FC máxima (b.p.m)	166,54	14,88	166,19	15,71	166,96	16,14
RFC 1º minuto (b.p.m)	41,15	15,81	40,07	17,31	41,28	19,90
RFC 2º minuto (b.p.m)	56,05	16,90	55,11	14,50	55,08	15,75
RFC 3º minuto (b.p.m)	61,03	14,92	62,16	14,01	60,69	15,02

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca.

Anexo M. Médias e desvios padrões das variáveis do teste ergométrico para o polimorfismo do receptor B2 da bradicinina BK2R no sexo feminino

Variável	II		ID		DD	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Capacidade de exercício (METS)	8,77	1,72	8,99	1,96	8,63	2,03
Reserva Cronotrópica (unidade)	0,85	0,15	0,86	0,15	0,83	0,17
Depressão ST DII (mm)	0,16	0,37	0,24	0,49	0,13	0,35
Depressão ST V ₅ (mm)	0,11	0,31	0,13	0,36	0,10	0,28
PAS máxima (mm Hg)	164,32	20,97	161,48	20,44	161,00	20,17
PAD máxima (mm Hg)	80,59	9,52	85,14	10,22	83,14	9,38
RPAS 1º minuto (mm Hg)	9,50	13,78	8,61	12,40	8,64	10,75
RPAS 2º minuto (mm Hg)	23,59	17,68	19,01	12,78	20,00	13,59
RPAS 3º minuto (mm Hg)	34,10	20,23	27,35	14,60	30,02	13,87
FC máxima (b.p.m)	160,31	17,61	163,37	17,57	158,57	17,32
RFC 1º minuto (b.p.m)	40,06	14,07	42,34	13,86	43,75	17,24
RFC 2º minuto (b.p.m)	56,37	15,75	58,34	12,73	57,53	16,39
RFC 3º minuto (b.p.m)	61,54	16,12	63,88	14,08	62,42	14,34

PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; RPAS, recuperação da pressão arterial sistólica; RFC, recuperação da frequência cardíaca.

9 REFERÊNCIAS

Albers AR, Krichavsky MZ, Balady GJ. Stress testing in patients with diabetes mellitus: diagnostic and prognostic value. *Circulation*. 2006;113:583-92.

Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*. 2001;357:593-615.

Aldo Ferrara L, Palmieri V, Limauro S, Viola S, Palmieri EA, Arezzi E, Ferrara F, Fazio S, Celentano A. Association between post-ischemic forearm blood flow and blood pressure response to maximal exercise in well trained healthy young men. *Int J Cardiol*. 2006;111(13):394-98.

Aktas MK, Ozduran V, Pothier CE, Lang R, Lauer MS. Global risk scores and exercise testing for predicting all-cause mortality in a preventive medicine program. *JAMA*. 2004;292(12):1462-68.

Braun A, Kammerer S, Böhme E, Müller B, Roscher AA. Identification of polymorphic sites of the human bradykinin B2 receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;211(1):234-40.

Burch RM, KyleDJ. Recent developments in the understanding of bradykinin receptors. *Life Sci*. 1992;50:829-38.

Bussière LM, Juneau M, Lalongé J, White M, Rouleau JL. Forearm reactive hyperemic blood flow and arm-cranking exercise capacity in healthy and heart failure subjects. *J Card Fail*. 2002;8(3):155-60.

Chalela WA, Fukushima RB, Araujo F, Lima AC, Moffa PJ, Mansur AJ. Treadmill exercise testing of asymptomatic men and women without evidence of heart disease. *Braz J Med Biol Res*. 2009;42(12):1230-5.

Chang HJ, Chung J, Choi SY, Yoon MH, Hwang GS, Shin JH, Tahk SJ, Choi BI. Endothelial dysfunction in patients with exaggerated blood pressure response during treadmill test. *Clin Cardiol*. 2004;27(7):421-25.

Chen W, Srinivasan SR, Li S, Boerwinkle E, Berenson GS. Gender-specific influence of NO synthase gene on blood pressure since childhood: the Bogalusa Heart Study. *Hypertension*. 2004;44:668-73.

Cole CR, Blackstone EH, Pashkow FJ, Snader CE, Lauer MS. Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. *N Engl J Med*. 1999;341(18):1351-57.

Dias RG, Alves MN, Pereira AC, et al. Glu298Asp eNOS gene polymorphism causes attenuation in nonexercising muscle vasodilatation. *Physiol Genomics*. 2009;37:99-107.

Dias RG, Negrão CE, Krieger MH. Nitric oxide and the cardiovascular system: cell activation, vascular reactivity and genetic variant. *Arq Bras Cardiol*. 2011;96(1):68-75.

Di Francescomarino S, Sciartilli A, Di Valerio V, Di Baldassarre A, Gallina S. The effect of physical exercise on endothelial function. *Sports Med*. 2009;39:797-812.

Dosenko VE, Zagoriy VY, Haytovich NV, Gordok OA, Moibenko AA . Allelic polymorphism of endothelial NO-synthase gene and its functional manifestations. *Acta Biochimica Polonica*. 2006;53:299–302.

Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, Bochud M, Johnson AD, Chasman DI et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature*. 2011;478:103-9.

Erikssen G, Bodegard J, Bjornholt JV, Liestol K, Thelle DS, Erikssen J. Exercise testing of healthy men in a new perspective: from diagnosis to prognosis. *Eur Heart J*. 2004;25(11):978-86.

Finley JC Jr, O`Leary M, Wester D, Mackenzie S, Shepard N, Farrow S, Lockette W. A genetic polymorphism of the alpha2-adrenergic receptor increases autonomic responses to stress. *J Appl Physiol*. 2004; 96(6):2231-39.

Fleg JL, Piña IL, Balady GJ, Chaitman BR, Fletcher B, Lavie C, Limacher MC, Stein RA, Williams M, Bazzarre T. Assessment of functional capacity in clinical and research applications: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association *Circulation*. 2000;102(13):1591-7.

Franciosa JA, Park M, Levine TB. Lack of correlation between exercise capacity and indexes of resting left ventricular performance in heart failure. *Am J Cardiol*. 1981;47: 33–39.

Freeman K, Farrow S, Schmaier A, Freedman R, Schork T, Lockette W. Genetic polymorphism of the α_2 -adrenergic receptor is associated with increased platelet aggregation, baroreceptor sensitivity, and salt excretion in normotensive humans. *Am J Hypertens*. 1995;8:863–69.

Freeman JV, Dewey FE, Hadley DM, Myers J, Froelicher VF. Autonomic nervous system interaction with the cardiovascular system during exercise. *Prog Cardiovasc Dis*. 2006;48(5):342-62.

Freitas SR, Pereira AC, Floriano MS, Mill JG, Krieger JE. Association of alpha1a-adrenergic receptor polymorphism and blood pressure phenotypes in the Brazilian population. *BMC Cardiovasc Disord*. 2008;8:40.

Freitas SR, Pereira AC, Floriano MS, Mill JG, Krieger JE. Insertion/deletion polymorphism of the bradykinin type 2 receptor gene influence diastolic blood pressure. *J Hum Hypertens*. 2009;23(8):553-5.

Gaskell WH. Further Researches on the Vasomotor Nerves of Ordinary Muscles. *J Physiol*. 1878; 1 (4-5): 262-426.

Ghiadoni L, Donald AE, Cropley M, Mullen MJ, Oakley G, Taylor M, O'Connor G, Betteridge J, Klein N, Steptoe A, Deanfield JE. Mental stress induces transient endothelial dysfunction in humans. *Circulation*. 2000;102(20):2473-78.

Girod JP, Garcia MJ, Saunders S, Drinko J, Brotman DJ. Relation of brachial artery

reactivity to nitroglycerin and heart rate recovery following exercise in healthy male volunteers. *Am J Cardiol.* 2005;96(3):447-49.

Green DJ, Maiorana AJ, Cable NT. Point: exercise training does induce vascular adaptations beyond the active muscle beds. *J Appl Physiol.* 2008;105(3):1002-04.

Gu D, Ge D, Snieder H, He J, Chen S, Huang J, Li B, Chen R, Qiang B. Association of alpha1A adrenergic receptor gene variants on chromosome 8p21 with human stage 2 hypertension. *J Hypertens.* 2006a;24(6):1049-56.

Gu D, Su S, Ge D, et al. Association Study With 33 Single-Nucleotide Polymorphisms in 11 Candidate Genes for Hypertension in Chinese. *Hypertension.* 2006b;47:1147.

Guimarães S, Moura D. Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacol Rev.* 2001; 53(2):319-56.

Hand BD, McCole SD, Brown MD, Park JJ, Ferrell RE, Huberty A, Douglass LW, Hagberg JM. NOS3 Gene Polymorphisms and Exercise Hemodynamics in Postmenopausal Women. *Int J Sports Med.* 2006;27(12):951-58.

Heinonen P, Jartti L, Jarvisalo MJ, Pesonen U, Kaprio JA, Ronnema T, Raitakari OT, Scheinin M. Deletion polymorphism in the alpha2b-adrenergic receptor gene is associated with flow-mediated dilatation of the brachial artery. *Clin Sci (Lond).* 2002; 103(5): 517-24.

Heffernan KS, Karas RH, Patvardhan EA, Kuvin JT. Endothelium-dependent vasodilation is associated with exercise capacity in smokers and non-smokers. *Vasc Med.* 2009;15(2):119-25.

Hijmering ML, Stroes ES, Olijhoek J, Hutten BA, Blankestijn PJ, Rabelink TJ. Sympathetic activation markedly reduces endothelium dependent flow mediated vasodilatation. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39 (4):683-88.

Hodges GJ, Sharp L, Clements RE, Goldspink DF, George KP, Cable NT.

Influence of age, sex, and aerobic capacity on forearm and skin blood flow and vascular conductance. *Eur J Appl Physiol*. 2010;109:1009-15.

Huang PH, Leu HB, Chen JW, Cheng CM, Huang CY, Tuan TC, Ding PY, Lin SJ. Usefulness of attenuated heart rate recovery immediately after exercise to predict endothelial dysfunction in patients with suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2004;93(1):10-13.

Huang PH, Leu HB, Chen JW, Wu TC, Lu TM, Ding YA, Lin SJ. Comparison of endothelial vasodilator function, inflammatory markers, and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with or without chronotropic incompetence to exercise test. *Heart*. 2006;92(5):609-14.

Iacoviello M, Forleo C, Sorrentino S, Romito R, De Tommasi E, Lucarelli K, Guida P, Pitzalis MV. Alpha- and beta-adrenergic receptor polymorphisms in hypertensive and normotensive offspring. *J Cardiovasc Med*. 2006; 7(5):316–21.

Imai K, Sato H, Hori M, et al. Vagally mediated heart rate recovery after exercise is accelerated in athletes but blunted in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24:1529-35.

Ingelsson E, Larson MG, Vasan RS, O'Donnell CJ, Yin X, Hirschhorn JN, Newton-Cheh C, Drake JA, Musone SL, Heard-Costa NL, Benjamin EJ, Levy D, Atwood LD, Wang TJ, Kathiresan S. Heritability, linkage, and genetic associations of exercise treadmill test responses. *Circulation*. 2007;115(23):2917-24.

Jiang S, Mao G, Zhang S, Hong X, Tang G, Li Z, Liu X, Zhang Y, Wang B, Xu X, Wang X. Individual and joint association of alpha1A-adrenergic receptor Arg347Cys polymorphism and plasma irbesartan concentration with blood pressure therapeutic response in Chinese hypertensive subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 2005;78(3):239-48.

Jones LC, Hingorani AD. Genetics regulation of endothelial function. *Heart*. 2005; 91(10): 1275-77.

Jouven X, Zureik M, Desnos M, Courbon D, Ducimetière P. Long term outcome in asymptomatic men with exercise-induced premature ventricular depolarizations. *N Engl J Med.* 2000;343(12):826-33.

Jouven X, Empana JP, Schwartz PJ, Desnos M, Courbon D, Ducimetière P. Heart-rate profile during exercise as a predictor of sudden death. *N Engl J Med.* 2005; 352(19):1951-58.

Kim JS, Cho JR, Park S, Shim J, Kim JB, Cho DK, Shin HJ, Park CM, Ko YG, Ha JW, Choi D, Rim SJ, Jang Y, Chung N. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism is associated with hypertensive response to exercise in well-controlled hypertensive patients. *Yonsei Med J.* 2007;48(3):389-95.

Kirstein SL, Insel PA. Autonomic nervous system pharmacogenomics: a progress report. *Pharmacol Rev.* 2004;56:31-52.

Kneale BJ, Chowienczyk PJ, Brett SE, Coltart DJ, Ritter JM. Gender differences in sensitivity to adrenergic agonists of forearm resistance vasculature. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:1233-8.

Kokkinos P, Myers J, Faselis C, Panagiotakos DB, Doulmas M, Pittaras A, Manolis A, Kokkinos JP, Karasik P, Greenberg M, Papademetriou V, Fletcher R. Exercise capacity and mortality in older men: a 20-year follow-up study. *Circulation.* 2010; 122(8):790-7.

Kurl S, Laukkanen JA, Rauramaa R, Lakka TA, Sivenius J, Salonen JT. Systolic blood pressure response to exercise stress test and risk of stroke. *Stroke.* 2001; 32(9):2036-41.

Kurnik D, Muszkat M, Li C, Sofowora GG, Friedman EA, Scheinin M, Wood AJ, Stein CM. Genetic variations in the $\alpha(2A)$ -adrenoreceptor are associated with blood pressure response to the agonist dexmedetomidine. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011; 4:179-87.

Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, Pandian NG, Rand WM, Udelson JE, Karas RH. Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(7):1843-49.

Lacolley P, Gautier S, Poirier O, Pannier B, Cambien F, Benetos. Nitric oxide synthase gene polymorphisms, blood pressure and aortic stiffness in normotensive and hypertensive subjects. *J Hypertens*. 1998;16(1):31-35.

Landmesser U, Horning B, Drexler H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? *Circulation*. 2004;109(21 suppl 1):II 27-33.

Lauer MS, Okin PM, Larson MG, Evans JC, Levy D. Impaired heart rate response to graded exercise. Prognostic implications of chronotropic incompetence in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1996;93(8):1520-26.

Laukkanen JA, Mäkikallio TH, Kauhanen J, Kurl S. Insertion/deletion polymorphism in alpha2-adrenergic receptor gene is a genetic risk factor for sudden cardiac death. *Am Heart J*. 2009;158(4):615-21.

Lepori M, Sartori C, Duplain H, Nicod P, Scherrer U. Interaction between cholinergic and nitrenergic vasodilation: a novel mechanism of blood pressure control. *Cardiovasc Res*. 2001;51:767-72.

Lewis GD, Gona P, Larson MG, Plehn JF, Benjamin EJ, O'Donnell CJ, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. Exercise blood pressure and the risk of incident cardiovascular disease (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol*. 2008;101:1614-20.

Lind L, Sarabi M, Millgård J, Kahan T. Endothelium-dependent vasodilation is impaired in apparently healthy subjects with a family history of myocardial infarction. *J Cardiovasc Risk*. 2002;9:53-7.

Lockette W, Ghosh S, Farrow S, Mackenzie S, Baker S, Miles P, Schork A, Cadaret L. Alpha2-adrenergic receptor gene polymorphism and hypertension in blacks. *Am J Hypertens*. 1995;8:390-94.

Lohse MJ. β -adrenoceptor polymorphisms and heart failure. *Trends Mol Med*. 2004;10(2):55-58.

Luger A, Deuster PA, Debolt JE, Loriaux DL, Chrousos GP. Acute exercise stimulates the renin-angiotensin-aldosterone axis: adaptive changes in runners. *Horm Res*. 1988;30(1):5-9.

Luzier AB, Nawarskas JJ, Añonuevo J, Wilson MF, Kazierad DJ. The effects of gender on adrenergic receptor responsiveness. *J Clin Pharmacol*. 1998;38:618-24.

Matsunaga T, Yasuda K, Adachi T, Gu N, Yamamura T, Moritani T, Tsujimoto G, Tsuda K. Alpha-adrenoceptor gene variants and autonomic nervous system function in a young healthy Japanese population. *J Hum Genet*. 2007;52(1):28-37.

Middlekauff HR. How does cardiac resynchronization therapy improve exercise capacity in chronic heart failure? *J Card Fail*. 2005;11:534-41.

Minson CT, Green DJ. Measures of vascular reactivity: prognostic crystal ball or Pandora's box? *J Appl Physiol*. 2008;105(2):398-9.

Miyai N, Arita M, Miyashita K, Morioka I, Shiraishi T, Nishio I. Blood pressure response to heart rate during exercise test and risk of future hypertension. *Hypertension*. 2002;39(3):761-66.

Mora S, Redberg RF, Cui Y, Whiteman MK, Flaws JA, Sharrett AR, Blumenthal RS. Ability of exercise testing to predict cardiovascular and all-cause death in asymptomatic women: a 20-year follow-up of the lipid research clinics prevalence study. *JAMA*. 2003;290(12):1600-07.

Morsheid-Meibodi A, Larson MG, Levy D, O'Donnell CJ, Vasan RS. Heart rate recovery after treadmill exercise testing and risk of cardiovascular disease events (The Framingham Heart Study). *Am J Cardiol*. 2002; 90(8): 848-52.

Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, Atwood JE. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med*.

2002;346(11):793-801.

Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H, Motoyama T, Saito Y, Ogawa Y, Miyamoto Y, Nakao K. T-786-->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation*. 1999;99:2864-70.

Negrao MV, Alves CR, Alves GB, Pereira AC, Dias RG, Laterza MC, Mota GF, Oliveira EM, Bassaneze V, Krieger JE, Negrao CE, Rondon MU. Exercise training improves muscle vasodilatation in individuals with T786C polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene. *Physiol Genomics*. 2010;42A:71-7.

Niebauer J, Cooke JP. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *J Am Coll Cardiol*. 1996;28(7):1652-60.

Nieminen T, Lehtimäki T, Laiho J, Rontu R, Niemela K, Koobi T, Lehtinen R, Viik J, Turjanmaa V, Kahonen M. Effects of polymorphisms in β 1-adrenoceptor and α -subunit of G protein on heart rate and blood pressure during exercise test. The Finnish Cardiovascular Study. *J Appl Physiol*. 2006; 100(2):507-11.

Padilla J, Harris RA, Fly AD, Rink LD, Wallace JP. A comparison between active- and reactive-hyperaemia-induced brachial artery vasodilation. *Clin Sci*. 2006; 110(3):387-92.

Padilla J, Simmons GH, Newcomer SC, Laughlin MH. Relationship between brachial and femoral artery endothelial vasomotor function/phenotype in pigs. *Exp Biol Med*. 2010;235(11):1287-91.

Palmieri EA, Palmieri V, Innelli P, Arezzi E, Ferrara LA, Celentano A, Fazio S. Aerobic exercise performance correlates with post-ischemic flow-mediated dilatation of the brachial artery in young healthy men. *Eur J Appl Physiol*. 2005; 94(1-2):113-17.

Patel AR, Kuvin JT, DeNofrio D, Kinan D, Sliney KA, Eranki KP, Pandian NG, Udelson JE, Konstam MA, Karas RH. Peripheral vascular endothelial function

correlates with exercise capacity in cardiac transplant recipients. *Am J Cardiol.* 2003;91:897-9.

Patel AR, Kuvin JT, Sliney KA, Rand WM, Pandian NG, Karas RH. Peripheral vascular endothelial function correlates with exercise capacity in women. *Clin Cardiol.* 2005; 28(9):433-36.

Periaswamy R, Gurusamy U, Shewade DG, Cherian A, Swaminathan RP, Dutta TK, Jayaraman B, Chandrasekaran A. Gender specific association of endothelial nitric oxide synthase gene (Glu298Asp) polymorphism with essential hypertension in a south Indian population. *Clin Chim Acta.* 2008;395:134-6.

Pollock ML, Bohannon RL, Cooper KH, Ayres JJ, Ward A, White SR, Linnerud AC. A comparative analysis of four protocols for maximal treadmill stress testing. *Am Heart J.* 1976;92(1):39-46.

Raiko JR, Magnussen CG, Kivimäki M, Taittonen L, Laitinen T, Kähönen M, Hutri-Kähönen N, Jula A, Loo BM, Thomson RJ, Lehtimäki T, Viikari JS, Raitakari OT, Juonala M. Cardiovascular risk scores in the prediction of subclinical atherosclerosis in young adults: evidence from the cardiovascular risk in a young Finns study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010;17:549-55.

Ribeiro MM, Silva AG, Santos NS, Guazzelle I, Matos LN, Trombetta IC, Halpern A, Negrão CE, Villares SM. Diet and exercise training restore blood pressure and vasodilatory responses during physiological maneuvers in obese children. *Circulation.* 2005;111(15):1915-23.

Rondon MU, Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, Krieger EM, Negrão CE. Abnormal muscle metaboreflex control of sympathetic activity in never-treated hypertensive subjects. *Am J Hypertens.* 2006; 19(9):951-7.

Rosengren AH, Jokubka R, Tojjar D, Granhall C, Hansson O, Li DQ, Nagaraj V, Reinbothe TM, Tuncel J, Eliasson L, Groop L, Rorsman P, Salehi A, Lyssenko V, Luthman H, Renström E. Overexpression of alpha2A-adrenergic receptors

contributes to type 2 diabetes. *Science*. 2010;327:217-20.

Rosmond R, Bouchard C, Björntorp P. A C-1291G polymorphism in the alpha2A-adrenergic receptor gene (ADRA2A) promoter is associated with cortisol escape from dexamethasone and elevated glucose levels. *J Intern Med*. 2002;251:252-7.

Rossi GP, Taddei S, Viridis A, Cavallin M, Ghiadoni L, Favilla S, Versari D, Sudano I, Pessina AC, Salvetti A. 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.

Saltin B. Exercise hyperaemia: magnitude and aspects on regulation in humans. *J Physiol*. 2007;583:819-23.

Sanders JS, Mark AL, Ferguson DW. Evidence for cholinergically mediated vasodilation at the beginning of isometric exercise in humans. *Circulation*. 1989;79:815-24.

Sarelius I, Pohl U. Control of muscle blood flow during exercise: local factors and integrative mechanisms. *Acta Physiol*. 2010;199:349-65.

Schmitt JA, Joyner MJ, Charkoudian N, Wallin BG, Hart EC. Sex differences in alpha-adrenergic support of blood pressure. *Clin Auton Res*. 2010;20:271-5.

Shibata K, Hirasawa A, Moriyama N, Kawabe K, Ogawa S, Tsujimoto G. Alpha 1a-adrenoceptor polymorphism: pharmacological characterization and association with benign prostatic hypertrophy. *Br J Pharmacol*. 1996;118:1403-08.

Singh JP, Larson MG, Manolio TA, O'Donnell CJ, Lauer M, Evans JC, Levy D. Blood pressure response during treadmill testing as a risk factor for new-onset hypertension. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1999;99:1831-36.

Small KM, Forbes SL, Rahman FF, Bridges KM, Liggett SB. An asn to lys polymorphism in the third intracellular loop of the human α 2A-adrenergic receptor imparts enhanced agonist-promoted G_i coupling. *J Biol Chem*. 2000;275:38518-23.

Snapir A, Heinonen P, Alhopuro P, et al. An insertion/deletion polymorphism in the alpha2B-adrenergic receptor gene is a novel genetic risk factor for acute coronary events. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37(6):1516-22.

Snapir A, Mikkelsen J, Perola M, Penttila A, Scheinin M, Karhunen PJ. Variation in the alpha2B-adrenoceptor gene as a risk factor for prehospital fatal myocardial infarction and sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(2):190-94.

Soares-Miranda L, Franco FG, Roveda F, Martinez DG, Rondon MU, Mota J, Brum PC, Antunes-Correa LM, Nobre TS, Barretto AC, Middlekauff HR, Negrao CE. Effects of exercise training on neurovascular responses during handgrip exercise in heart failure patients. *Int J Cardiol.* 2011;146:122-5.

Sponton CH, Rezende TM, Mallagrino PA, Franco-Penteado CF, Bezerra MA, Zanesco A. Women with TT genotype for eNOS gene are more responsive in lowering blood pressure in response to exercise. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010;17:676-81.

Svetkey LP, Timmons PZ, Emoven O, Anderson NB, Preis L, Chen YT. Association of hypertension with beta2 and alpha2c10-adrenergic receptor genotype. *Hypertension.* 1996;27(6):1210-15.

Tanoue A, Koshimizu TA, Tsujimoto G. Transgenic studies of alpha1-adrenergic receptor subtype function. *Life Sci.* 2002;71(19):2207-15.

Thijssen DH, Dawson EA, Black MA, Hopman MT, Cable NT, Green DJ. Brachial artery blood flow responses to different modalities of lower limb exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41:1072-9.

Trombetta IC, Batalha LT, Rondon MU, Laterza MC, Kuniyoshi FH, Gowdak MM, Barretto AC, Halpern A, Villares SM, Negrão CE. Weight loss improves neurovascular and muscle metaboreflex control in obesity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(3):H974-82.

Trombetta IC, Batalha LT, Rondon MU, Laterza MC, Frazzatto E, Alves MJ, Santos

AC, Brum PC, Barretto AC, Halpern A, Villares SM, Negrão CE. Gly16 + Glu27 β 2-adrenoceptor polymorphism cause increased forearm blood flow responses to mental stress and handgrip in human. *J Appl Physiol*. 2005;98(3):787-94.

Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, Johnson C, Polak JF, Post W, Lima JA, Crouse JR, Herrington DM. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009;120:502-9.

Yeboah J, Crouse JR, Bluemke DA, Lima JA, Polak JF, Burke GL, Herrington DM. Endothelial dysfunction is associated with left ventricular mass (assessed using MRI) in an adult population (MESA). *J Hum Hypertens*. 2011;25:25-31.

Zakrzewski-Jakubiak M, de Denus S, Dubé MP, Bélanger F, White M, Turgeon J. Ten renin-angiotensin system-related gene polymorphisms in maximally treated Canadian Caucasian patients with heart failure. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;65(5):742-51.

Zhu H, Wang X, Dong Y, Treiber FA, Snieder H. Influence of the eNOS gene on development of blood pressure and left ventricular mass: longitudinal findings in multiethnic youth. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15(9):669-75.