

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM GERIATRIA

**O POLIMORFISMO Gln223Arg DO GENE DO RECEPTOR DA LEPTINA E A
SUA ASSOCIAÇÃO COM FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR**

ADRIANA FRANCIOSI RITTER DOS SANTOS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da PUCRS, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

**ORIENTADORA: PROF^a. DRA. DENISE CANTARELLI MACHADO
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CARLOS BODANESE**

Porto Alegre
2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

S237p **Santos, Adriana Franciosi Ritter dos**

O polimorfismo Gln223Arg do gene do receptor da leptina e a sua associação com fatores de risco cardiovascular / Adriana Franciosi Ritter dos Santos; orient. Denise Cantarelli Machado, co-orient. Luiz Carlos Bodanese. Porto Alegre: PUCRS, 2005.

58f.: il. graf. tab.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de concentração: Geriatria.

1. POLIMORFISMO (GENÉTICA). 2. LEPTINA/metabolismo. 3. LEPTINA/genética. 4. FATORES DE RISCO. 5. DOENÇAS CARDIOVASCULARES/genética. 6. IDOSO. 7. ENVELHECIMENTO. 8. MARCADORES GENÉTICOS. 9. ESTUDOS TRANSVERSAIS. I. Machado, Denise Cantarelli. II. Bodanese, Luiz Carlos. III. Título.

C.D.D. 618.9761
C.D.U. 548.33:616.1-053.9(043.3)
N.L.M. QU 500

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Dra. Denise Cantarelli Machado e Dr. Luiz Carlos Bodanese, pela confiança depositada e pela competência e dedicação demonstrados na orientação deste trabalho.

À toda equipe do laboratório de Pneumologia do IPB, que me recebeu e me acolheu muito bem. Em especial ao técnico Christian e a bolsista de iniciação científica Fernanda, que sempre estavam prontos para me ajudar e que fizeram as minhas manhãs de genotipagens mais alegres e recompensadoras.

Aos meus professores e colegas da pós-graduação, pelos ensinamentos e pela amizade.

À minha ex-orientadora de pós-graduação e orientadora de iniciação científica, Prof^a. Dra. Ivana Beatrice Mânica da Cruz, que me proporcionou o primeiro contato com a ciência e que teve muita importância em todo meu desenvolvimento científico e profissional. Ivana será sempre lembrada na minha trajetória, seja pelos teus conhecimentos científicos, pelo teu jeito de ser e enfrentar as situações ou simplesmente pela tua amizade!

À minha co-orientadora de iniciação científica e amiga Prof^a. Dra. Carla Schwanke, que me ensinou muito, desde apresentações e pôsteres até grande parte da minha conduta científica.

A todos os amigos que fiz durante minha iniciação científica no laboratório de bioquímica e genética Molecular do Instituto de Geriatria e Gerontologia da PUCRS, em especial aos alunos de iniciação científica, Denise Müzzel, Luisa Abruzzi, Luciano Vieira, Fabio Kelleter, Sandra Augustin, Ana Amélia, Paulo Jobim e Joel Maia; aos atuais mestres, Maria Gabriela Gottlieb, Margo Canto, Jacqueline Piccoli e aos técnicos Ricardo e Leni.

À Sônia Mantovani, secretária do programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da PUCRS, que muito mais do que ser secretária foi uma grande amiga, que com muita paciência e competência sempre resolveu todos os problemas e se mostrou a disposição, inclusive para bons bate-papos.

Ao Mauricio secretário do programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da PUCRS, que sempre foi muito atencioso e disposto a ajudar.

Aos meus pais que me apoiaram durante todo o período do curso, ou melhor, durante toda a minha vida.

A todas as pessoas entre elas irmãs, cunhados e amigos que acompanharam minha trajetória ou parte dela e que me apoiaram de alguma forma, seja ajudando em alguma palavra muito diferente em inglês ou estando do meu lado e me dando força nos momentos difíceis, a elas o meu muito obrigado.

Aos órgãos financiadores, CNPq e CAPES, que me proporcionaram a oportunidade de desenvolver este projeto.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	III
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE TABELAS.....	X
RESUMO.....	XI
ABSTRACT.....	XIII
INTRODUÇÃO.....	15
1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
1.1 ENVELHECIMENTO.....	17
1.1.1 <u>CONCEITUANDO O ENVELHECIMENTO</u>	17
1.1.2 <u>TRANSIÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E EXPECTATIVA DE VIDA</u>	18
1.1.3 <u>DOENÇAS CARDIOVASCULARES</u>	19
1.2 FATORES DE RISCO PARA DOENÇAS CARDIOVASCULARES....	20
1.2.1 <u>OBESIDADE</u>	21
1.2.2 <u>DISLIPIDEMIAS</u>	24
1.2.3 <u>HIPERTENSÃO</u>	27
1.3 LEPTINA.....	29
1.4 GENE RECEPTOR DA LEPTINA E O POLIMORFISMO Gln223Arg	32
1.5 HIPÓTESE GERAL.....	34
2 OBJETIVOS.....	35
2.1 OBJETIVO GERAL.....	35
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 DELINEAMENTO GERAL.....	36
3.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	36

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	37
3.4 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E FISIOLÓGICAS	37
3.5 ANÁLISE LABORATORIAL.....	38
3.5.1 <u>EXAMES BIOQUÍMICOS</u>	38
3.5.2 <u>EXTRAÇÃO DE DNA E GENOTIPAGEM</u>	38
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
3.7 ÉTICA.....	40
4 RESULTADOS.....	41
4.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO POLIMORFISMO LEPR Gln223Arg	41
4.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO LEPR Gln223Arg e IMC	44
4.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO LEPR Gln223Arg e HAS	44
5 DISCUSSÃO.....	46
CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXOS.....	61
Anexo A – Questionário Idosos Passo Fundo 2º/2003	
Anexo B -Aprovação da Comissão Científica e CEP	
Anexo C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
Anexo D – Artigo para publicação	

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Nucleotídeo adenina
AVC	Doenças cérebro vasculares
C	Nucleotídeo citosina
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronariana
DCD	Doença crônica degenerativa
DCV	Doença cardiovascular
DM	Diabetes mellitus
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTPS	Nucleotídeos sob a forma de 3'-desoxinucleotídeos trifosfatados
dp	Desvio padrão
G	Nucleotídeo Guanina
GG, GA, AA	Genótipos da LEPR Gln223Arg
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
IMC	Índice de massa corporal
Kg/m ²	Quilogramas por metro quadrado
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LEPR	Receptor de leptina (gene)
LEPR Gln223Arg	Polimorfismo no gene receptor de leptina

mg/dl	Miligramas por decilitro
mM	Milimolar
μ M	Micromolar
μ L	Microlitros
n	Tamanho da amostra
NPY	Neuropeptídeo Y
<i>P</i>	Nível de significância
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PCR-RFLP	Polymerase chain reaction- restriction fragments length polymorphism
T	Nucleotídeo timina
TG	Triglicérides
%	Porcentagem
χ^2	Qui-quadrado

LISTA DE FIGURAS

- | | | |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Via de sinalização da leptina e ações sobre o apetite e o gasto energético | 30 |
| Figura 2 | Os três polimorfismos descritos no gene LEPR; Lys109Arg, Gln223Arg, Lys656Asn e suas respectivas trocas de nucleotídeos; A por G, A por G e G por C. | 33 |
| Figura 3 | Esquema da visualização em gel de agarose 3,5% corado com brometo de etídio, dos fragmentos do LEPR Gln223Arg digeridos pela endonuclease de restrição <i>MspI</i> , gerando os três genótipos possíveis | 39 |
| Figura 4 | Associação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg e as diversas variáveis investigadas | 42 |

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores de referência para o diagnóstico de dislipidemias em adultos >20 anos	25
Tabela 2	Classificação da pressão arterial	28
Tabela 3	Influência dos fatores orgânicos e ambientais nos níveis de leptina	32
Tabela 4	Freqüências alélicas do polimorfismo LEPR Gln223Arg	41
Tabela 5	Freqüências genóticas do polimorfismo LEPR Gln223Arg	42
Tabela 6	Comparação de variáveis demográficas, lipídios e pressão arterial entre os grupos definidos pelos genótipos do polimorfismo LEPR Gln223Arg	43
Tabela 7	Distribuição do índice de massa corporal (IMC) entre os três genótipos	44
Tabela 8	Relação entre os alelos A e G e a presença de hipertensão arterial sistêmica (HAS)	45
Tabela 9	Variação da freqüência alélica do polimorfismo LPR Gln223Arg em diferentes populações e grupos étnicos	47

RESUMO

Introdução: Nesses últimos anos tem sido observado um aumento na expectativa de vida da população em todo mundo, assim crescendo o grupo populacional de idosos. Atrélado a este aumento, observou-se o aumento da prevalência das doenças crônico-degenerativas(DCD). Sabendo que as DCD, como as doenças cardiovasculares (DCV) e seus fatores de risco (colesterol e suas frações), obesidade e hipertensão arterial têm influencia genético-ambiental, muitos estudos têm sido realizados a fim de identificar qual é a influência da genética nas mesmas. Neste contexto, muitos genes vêm sendo estudados, entre eles o gene do receptor da leptina (LEPR) que possui o polimorfismo Gln223Arg, o qual já foi relacionado à obesidade e hipertensão, entre outros fatores de risco cardiovascular.

Objetivo: o estudo buscou investigar em 260 idosos socialmente ativos, participantes do Projeto Passo fundo, a associação entre o polimorfismo do gene do receptor da leptina (LEPR Gln223Arg) e fatores de risco cardiovascular como índice de massa corporal (IMC), colesterol total e suas frações e hipertensão arterial sistêmica (HAS).

Metodologia: o delineamento foi do tipo transversal, descritivo-analítico, observacional. Os dados foram coletados a partir do banco de dados do Projeto Passo Fundo-RS (DATI). Na determinação do polimorfismo da LEPR foi utilizada a técnica de PCR-RFLP, utilizando-se a enzima de restrição *Msp* I para a identificação dos alelos G e A. Os dados quantitativos foram descritos por média e desvio padrão, enquanto que os categóricos, por contagens e percentuais. As comparações quantitativas foram realizadas com análise de variância seguida de teste de Tukey e as categóricas, por qui-quadrado. Para avaliar a associação dos genótipos com a presença de hipertensão ajustada para sexo, idade e massa corporal foi utilizado um modelo de regressão logística múltipla. Os dados foram analisados com o programa SPSS (ver 12.0). Todos os participantes do estudo assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

Resultados: a idade média da amostra investigada foi de $67,3 \pm 6$ anos, sendo 84,6% (220) mulheres. A frequência alélica do polimorfismo da LEPR foi de 0,624 para o alelo G e 0,376 para o alelo A, sendo tais alelos distribuídos genotipicamente: GG=32,7% (85), GA=59,2% (154), AA=8,1% (21). Não houve associação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg e IMC, colesterol total, HDL-c, LDL-c e HAS.

Conclusão: Não houve associação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg e IMC, colesterol total, HDL-c, LDL-c e HAS.

Unitermos: LEPR Gln223Arg, polimorfismo genético do receptor da leptina, fatores de risco cardiovascular, leptina.

ABSTRACT

Introduction: In the last few years it has been observed an increasing in the population life expectation all over the world, resulting in a rise of the elderly population. Associated with this growth, it has been observed an enlargement of the chronic degenerative diseases (CDD) prevalence. Several studies have been done in order to identify the influence of genetics and environment in the CDD. Among such diseases one could emphasize the cardiovascular diseases and its risk factors (cholesterol and fractions), obesity and hypertension. In this context, several genes have been studied, as leptin receptor gene (LEPR) for an example. This gene has the polymorphism Gln223Arg which is related to obesity, hypertension and other cardiovascular risk factors.

Objective: This study attempted to investigate the association of polymorphisms leptin gene receptor (LEPRGln223Arg) with cardiovascular risk factors how body mass index (BMI) and hypertension arterial systemic, in 260 socially active elderly participating in the Passo Fundo-RS (DATI) Project.

Methodology: The study design was of a transversal, descriptive-analytical, observational type. Data were collected for the Passo Fundo Project bank. For determination of LEPR polymorphism, the PCR-RFLP technique was used, utilizing Msp I restriction enzyme for identification of alleles G and A. The quantitative data was described by means and standard derivation whereas the categorical by counting and percentuals. The quantitative comparasion were done with variant analysis follow by the Tukey's *post hoc* test and the categorical with the chi-square test. To evaluate the association of genotypes with the presence of hypertension adjusted for gender, age and body mass index a multiple logistic regression model was used. The data was analysed with the SPSS version 12.0 program. All the study participants signed an informed consent form.

Results: The mean age of the investigated sample was 67,3 \pm 6 years, with 80.2% females (220). The allele frequency of polymorphism of LEPR was 0,624 for allele G and 0,376 for A, being such alleles distributed genotypically as follow: GG=32,7% (85), GA=59,2% (154), AA=8,1% (21). No correlation between polymorphism LEPR Gln223Arg and, BMI, total cholesterol, HDL-c, LDL-c and HAS.

Conclusion: No correlation between polymorphism LEPR Gln223Arg and, BMI, total cholesterol, HDL-c, LDL-c and HAS.

Keywords: LEPR Gln223Arg, polymorphisms leptin gene receptor, cardiovascular risk factors, leptin.

INTRODUÇÃO

As mudanças ocorridas durante o século XX, como a urbanização, trouxeram alterações no estilo de vida. O sedentarismo, a alteração na alimentação com maior consumo de gorduras, ácidos graxos e açúcar, bem como o tabagismo tornaram-se fortemente presentes. Em paralelo, houve um avanço da medicina, fazendo com que as doenças infecto-contagiosas que, antes de 1900 eram as causas mais comuns de morte, praticamente fossem controladas ou erradicadas.

Com esta mudança de estilo de vida e o avanço da medicina ocorreu o que alguns autores chamam de transição epidemiológica. Esta transição ocasionou a prevalência das doenças crônico-degenerativas (DCD) e o aumento da expectativa de vida da população em todo mundo, assim crescendo o grupo populacional de idosos¹.

Sabendo que as DCD têm influência genético-ambiental, muitos estudos foram realizados a fim de identificar quais genes estão relacionados ao processo de envelhecimento e, principalmente, qual é a influência da genética nas DCD, como as doenças cardiovasculares (DCV), e seus fatores de risco: colesterol e suas frações (HDL-c, LDL-c), obesidade e hipertensão arterial sistêmica (HAS).

Entre as causas de morte no Brasil, as doenças do aparelho circulatório representam a principal causa (32%) em todas as regiões, seguidas pelas causas externas (15%) e neoplasias (15%)². No município de Passo Fundo que possui

185.278 habitantes, sendo 16.471 habitantes idosos (idade igual ou superior a 60 anos), a mortalidade por doenças do aparelho circulatório é de 33,1%³.

Dentro deste contexto, investigações que busquem analisar associações entre fatores genéticos, ambientais, envelhecimento e doenças associadas à idade são imprescindíveis para o aprimoramento de políticas preventivas e terapêuticas adequadas ao panorama populacional brasileiro que objetivem uma melhor qualidade vida.

Neste contexto, muitos genes vêm sendo estudados, entre eles o gene do receptor da leptina (LEPR) que possui o polimorfismo Gln223Arg, o qual já foi relacionado à obesidade e hipertensão, entre outros fatores de risco cardiovascular^{4,5}.

Deste modo, o presente estudo visou contribuir no entendimento da associação entre o polimorfismo Gln223Arg do receptor do gene da leptina e os fatores de risco cardiovascular, em um grupo de indivíduos idosos do município de Passo Fundo, RS, verificando a sua freqüência de distribuição alélica e genotípica e a possível associação desse polimorfismo com índice de massa corporal (IMC), colesterol total e suas frações e HAS.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 ENVELHECIMENTO

1.1.1 CONCEITUANDO O ENVELHECIMENTO

O termo envelhecimento é usado para descrever as mudanças morfofuncionais ao longo da vida, as quais ocorrem após a maturação sexual e progressivamente comprometem a capacidade de resposta dos indivíduos ao estresse ambiental e à manutenção da homeostásia. Entretanto é preciso lembrar que o envelhecimento tem como característica universal a ocorrência de mudanças ao longo do tempo, independente de terem ou não efeito deletério sobre a vitalidade e a longevidade. As mudanças relacionadas à idade devem atender quatro condições: 1) serem deletérias: reduzir a funcionalidade; 2) serem progressivas: devem ser estabelecidas gradualmente; 3) serem intrínsecas: não devem ser resultado de um componente ambiental modificável; 4) serem universais: todos os membros de uma espécie deveriam mostrar tais mudanças graduais com o avanço da idade⁶.

Troen⁷ descreveu dois tipos de envelhecimento. O envelhecimento normal que envolve mudanças fisiológicas universais e inexoráveis como a menopausa e o declínio da função renal, entre outros. E, o envelhecimento usual que inclui, além das mudanças fisiológicas, as DCD como a doença arterial coronariana, que não tem necessariamente ocorrência em todas as pessoas. Essas doenças encontram-se relacionadas a causas externas como o estilo de vida e a causas internas como a composição genética do indivíduo. Se o indivíduo possuir uma

genética desfavorável atrelada a um estilo de vida desfavorável terá uma maior predisposição a doenças e à morte.

1.1.2 TRANSIÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E EXPECTATIVA DE VIDA

As mudanças ocorridas durante o século XX, como a urbanização, trouxeram modificações no estilo de vida. O sedentarismo, a alteração na alimentação com maior consumo de gorduras, ácidos graxos e açúcar, bem como o tabagismo, tornaram-se fortemente presentes. Em paralelo, houve um avanço da medicina, fazendo com que as doenças infecto-contagiosas que, antes de 1900, eram as causas mais comuns de morte, praticamente fossem controladas ou erradicadas, caracterizando assim o que alguns autores chamam de transição epidemiológica^{1,8}.

Com essas mudanças ocorreu o aumento da expectativa de vida da população humana em todo mundo, uma vez que ocorreu a diminuição das taxas de mortalidade ao nascer ou durante a infância, trazendo uma maior incidência e prevalência de doenças crônico degenerativas associadas ao envelhecimento, e diminuição da ocorrência das doenças de causa infecto-contagiosas⁹.

A expectativa de vida é um conceito populacional representado pela idade em que 50% de uma dada população sobrevivem⁹. No Brasil, a expectativa de vida é de 71 anos, segundo censo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), e teve um aumento de 8,5 anos em relação a 1980 quando a expectativa de vida era de 62,5 anos. Com estes dados registrados em 2002 o Brasil agora está na posição 88^o no *ranking* de esperança de vida, segundo a Organização das Nações Unidas (ONU). A maior expectativa de vida é a do

Japão: 81,6 anos; a menor é a do Zâmbia: 32,4 anos. Para obter estes dados o IBGE aperfeiçoou as estimativas de mortalidade da população, revisando os números de 1980 a 2001 em trabalho conjunto com a ONU¹⁰.

Com este aumento da expectativa de vida, que gera o envelhecimento populacional, torna-se freqüente a ocorrência das doenças crônico-degenerativas. Entre elas pode-se mencionar diabetes mellitus (DM), doenças cardiovasculares (DCV), neoplasias, etc.

1.1.3 DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Em 1990, a população mundial era de 5,3 bilhões e as DCV causavam mais de 14,3 milhões de mortes (28,4%). Destas, 44% tinham como causa doença coronária e 31%, infarto do miocárdio.

As expectativas mundiais para 2020, em que a população estimada é de 7,8 bilhões, prevêem que as DCV serão responsáveis por 36,3% das mortes¹.

No Brasil, a partir da década de 60, as DCV passaram a ser a primeira causa de morte, ocupando o lugar das doenças infecto-contagiosas, acompanhando, assim, a transição epidemiológica¹¹.

As projeções referentes a essas doenças indicam a sua prevalência como principal causa de morte no mundo ainda por muitos anos. Estima-se que em 2025, entre 80 e 90% dos casos ocorrerão em países de média e baixa renda¹².

Entre as causas de morte no Brasil, as doenças do aparelho circulatório representam a principal causa (32%) em todas as regiões, seguidas pelas causas externas (15%) e neoplasias (15%)².

O aumento das doenças cardiovasculares é a maior causa de morte entre adultos. Aproximadamente 30% da mortalidade por DCV são atribuídas à doença arterial coronariana (DAC), seguida por doenças cérebro-vasculares (AVC), doença aterosclerótica e outras cardiopatias. Cabe lembrar que, além de serem causa de morte, são responsáveis por várias internações hospitalares e por longo período¹³.

No município de Passo Fundo, com 185.278 habitantes, tendo 16.471 habitantes idosos (idade igual ou superior a 60 anos), a mortalidade por doenças do aparelho circulatório é de 33,1%³.

Em recente artigo Libby et al.¹⁴ mostraram a importância de prevenir as DCV através de alterações no estilo de vida. Estas alterações podem incluir mudanças na alimentação e nas atividades físicas. Atreladas a essas mudanças, surgem medicações cada vez mais avançadas e colocadas à disposição para auxiliar na prevenção das doenças cardiovasculares. Combinando as mudanças ambientais com as novas estratégias farmacológicas o autor supõe que no futuro as DCV sejam erradicadas.

1.2 FATORES DE RISCO PARA DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Dados de alguns importantes estudos como Framingham, MRFIT e PROCAM mostram o indiscutível papel das dislipidemias, ou seja, LDL-c elevado, HDL-c diminuídos, HAS, tabagismo, idade e DM como fatores de risco independentes para aterosclerose e doenças arteriais coronarianas (DAC).

Dentre os fatores de risco predisponentes, os quais potencializam os fatores independentes, pode-se citar história familiar precoce de DAC, obesidade, sedentarismo, etnia, etc.

O controle de alguns dos fatores de risco independentes reduz de forma importante a morbimortalidade secundária à aterosclerose. O controle da HAS diminui a ocorrência do AVC em torno de 42% e da DAC em 15%; a redução do LDL-c em cerca de 30% diminui o risco de infarto em 33%, do AVC em cerca de 29% e da mortalidade cardiovascular em 28%¹⁵.

O estudo Framingham¹⁶ mostrou que a hipertensão arterial, o tabagismo e os elevados níveis de colesterol são os principais fatores que podem ser prevenidos em relação à doença cardiovascular.

Fatores de risco emergentes como polimorfismos genéticos e a sua interação com estilo de vida têm sido amplamente pesquisados. Neste âmbito pode-se citar investigações no polimorfismo do gene da apolipoproteína E (APOE) e no gene interleucina 6 (IL6), os quais se constituem em fatores de risco cardiovascular^{17,18}, entre vários outros genes como o LEPR. O gene LEPR vem sendo investigado como possível candidato à síndrome metabólica e, deste modo, relacionado à DCV.^{19,20}

1.2.1 OBESIDADE

A obesidade é uma doença crônica e é considerada uma epidemia global pela Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo um importante problema de saúde pública em países desenvolvidos e em desenvolvimento^{21,22}, apresentando etiologia multifatorial. Está associada ao aumento da morbi-mortalidade, pois o

excesso de gordura aumenta risco de HAS, doença cardíaca, diabetes tipo II e alguns tipos de câncer^{12,23,24}.

No mundo, o número estimado de pessoas obesas encontra-se acima de 300 milhões²⁵. Nos estados Unidos, a prevalência de obesidade em mulheres é de 33,4% e em homens, 27,5%. No Brasil, segundo inquérito nacional de 1997, a prevalência de obesidade está em torno de 12,4% para mulheres e 7,0% para homens. Quando se inclui a variável de sobrepeso, estes valores elevam-se para 38,5% nos homens e 39% nas mulheres²⁶.

A obesidade é definida como acúmulo excessivo de gordura corporal ocasionada por um aporte calórico demasiado e crônico de substratos combustíveis em relação ao gasto energético (metabolismo basal, efeito termogênico e atividade física)²⁷.

A OMS indica a antropometria como método mais indicado para identificar pessoas obesas devido ao baixo custo, à não-invasão e à aplicação universal. A combinação de duas ou mais medidas antropométricas (peso, altura, sexo, idade) geram os índices antropométricos.

Atualmente o índice mais utilizado para identificar a obesidade é o índice de massa corporal (IMC), calculado pela fórmula peso (kg) dividido pelo quadrado da altura (m). Segundo a OMS, é considerado obeso o indivíduo que apresenta IMC maior ou igual a 30Kg/m^2 e com sobrepeso o indivíduo que apresenta IMC entre 25Kg/m^2 e 30Kg/m^2 .

Estudos mostram a contribuição da obesidade na hipertensão por resistência à insulina e hiperinsulinemia, aumento da atividade adrenérgica e concentrações de aldosterona, retenção de sódio e água e aumento da

sobrecarga cardíaca, alterações na função endotelial, moléculas como a leptina e fatores genéticos²⁸.

A prevalência de obesidade em idosos tem sido descrita em vários estudos. Um estudo de Tavares e Anjo, em que foram analisados dados de todas as regiões do Brasil, registrou prevalência geral de 5,2% e 18,2% entre homens e mulheres, respectivamente. Quando analisados apenas os idosos da região Sul, 9,2% dos homens e 23,3% das mulheres apresentaram obesidade, o que coincidiu com os dados do estudo de Cabrera e Jacob Filho²⁹.

Há evidências de que a genética contribui de forma substancial para a regulação do peso corporal e, conseqüentemente, para o desenvolvimento da obesidade. Estudos sugerem que a herança da obesidade é de 50-90%³⁰.

O aumento mundial da prevalência de obesidade é atribuído, principalmente, às alterações no estilo de vida, que incidem sobre as predisposições genéticas para a obesidade.

Acredita-se que evolutivamente os indivíduos com maiores reservas, ou seja, com mais tecido adiposo podem ter sobrevivido em maior proporção durante as épocas de falta de alimentos, ocasionando a maior ocorrência de genes "poupadores" que, nas últimas décadas, atrelados ao sedentarismo e ao maior consumo calórico, encontram-se mais prevalentes na população, ocasionando, deste modo, a obesidade²⁷.

Um potencial mecanismo de desenvolvimento da obesidade é a resistência à leptina, um hormônio envolvido na regulação do peso corporal que age através do receptor de leptina. Estudos de polimorfismos no gene do receptor de leptina sugerem a associação destes polimorfismos à composição corporal e à distribuição da gordura no organismo^{31,32}.

1.2.2 DISLIPIDEMIAS

Dislipidemias são alterações no metabolismo das lipoproteínas plasmáticas, levando a defeitos no transporte dos lipídeos, sobretudo colesterol e triglicerídeos. O termo engloba os casos de hiper e hipocolesterolemia, hiper ou hipotrigliceridemia ou ambos. Também inclui as condições nas quais não se pode evidenciar aumento ou diminuição nos lipídeos, mas sim alterações nas proporções relativas entre uma lipoproteína plasmática e outra. Pode ser classificada como:

- hipercolesterolemia isolada: elevação isolada do colesterol total;
- hipertriglicerimemia isolada: elevação isolada do triglicerídeo;
- hiperlipidemia mista: valores aumentados do colesterol total e dos triglicerídeos.

As dislipidemias podem ser qualificadas através da classificação laboratorial e/ou etiológica (origem genética, outras doenças ou medicamentosa).

A Tabela 1 mostra os valores de referência para o diagnóstico de dislipidemias, segundo exames laboratoriais.

Tabela 1 – Valores de referência para o diagnóstico de dislipidemias em adultos >20 anos

Colesterol Total	>200mg/dL
HDL colesterol	< 60mg/dL
LDL colesterol	>100mg/dL
Triglicerídeos	>150mg/dL

*Valores segundo consenso do III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia³³.

A classificação etiológica das dislipidemias as divide em dois grupos:

- dislipidemias primárias, que possuem origem genética: hipercolesterolemia familiar, dislipidemia familiar combinada, hipercolesterolemia poligênica, hipertriglicemia familiar e síndrome da quilorniconemia;
- dislipidemias secundárias, causadas por outras doenças ou pelo uso de medicamentos: hipertireoidismo, DM, síndrome nefrótica, obesidade, alcoolismo, uso de altas doses de diuréticos, entre outros³⁴.

As dislipidemias, principalmente, as alterações nos níveis de colesterol, possuem associação com as DCV. Níveis baixos de HDL-c e elevados níveis de triglicerídeos estão claramente associados a essas doenças^{35,36}. Estima-se que, no mundo, os elevados níveis de colesterol são responsáveis por causar 56% das DIC e 18% dos infartos, ocasionando 4,4 milhões de mortes anuais¹.

O estudo Framingham¹⁶ foi o primeiro a observar a correlação inversa entre HDL-c e risco coronário. O aumento do HDL-c em 1mg/dL aumentou 1% no risco

de doença congênita do coração. Também mostrou que houve aumento em duas vezes de risco de DAC em pacientes com níveis de TG na faixa de 250-400mg/dL quando comparados com pacientes na faixa de 50-100mg/dL.

No PROCAM (*Munster Heart study*)^{36,37} TG moderadamente elevados foram associados como risco para DAC, independente dos níveis LDL-c e HDL-c.

Existem vários aspectos de proteção cardíaca associados com HDL-c incluindo transporte reverso de colesterol e efeitos antioxidantes que previnem a modificação da partícula de LDL-c com implicações antiinflamatórias³⁸.

Sabe-se que os níveis de lipídeos séricos têm etiologia multifatorial, sendo determinados por vários fatores ambientais e genéticos. Estudos buscando componentes genéticos dessas características têm focado os polimorfismos genéticos em genes que codificam proteínas estruturais e enzimas relacionadas ao metabolismo lipídico, como o polimorfismo do gene da apolipoproteína E (APOE), onde o alelo *E4* parece estar associado com níveis elevados de CT e LDL-c^{39,40} e o polimorfismo no gene apoA5 que evidencia a associação entre o polimorfismo 1131T/C com TG elevados em diferentes populações^{41,42}.

Estudos recentes mostram a influência dos fatores de risco clássicos para a dislipidemia, tais como obesidade e sedentarismo na ação dos polimorfismos. Deste modo, a associação entre dislipidemias com alguns polimorfismos genéticos de genes associados à obesidade vem sendo pesquisada. Entre eles, o gene da leptina que mostra associação com diferentes IMC^{43,44}.

1.2.3 HIPERTENSÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é um importante fator de risco cardiovascular e é caracterizada por níveis tensionais elevados, associados a alterações metabólicas e a fenômenos tróficos (hipertrofia cardíaca e vascular).

É uma das causas mais importantes de morbimortalidade prematura em idosos, já que tem alta prevalência e se constitui em fator de risco importante para complicações cardiovasculares e explica 40% das mortes por acidente vascular encefálico e 25% daquelas por DAC.

Apresenta alto custo médico-social pelas complicações como doença cérebro vascular, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, entre outras¹.

A HAS tem sido considerada, entre outros, fator de risco à síndrome metabólica que resulta provavelmente da interação do meio ambiente e predisposição genética dos indivíduos. Assim, a história de hipertensão arterial parece ter papel importante no desenvolvimento dessa síndrome^{4,45}.

A prevalência da HAS na população urbana adulta brasileira, segundo estudos selecionados, varia de 22,3% a 43,9%. Estima-se que no Brasil 65% dos idosos são hipertensos¹¹.

A HAS no idoso é importante, pois atua acelerando as alterações próprias do envelhecimento. Evidências epidemiológicas demonstraram que o risco cardiovascular no idoso hipertenso é maior que no normotenso de mesma idade⁵.

Atualmente, segundo a OMS⁴⁶, o idoso é considerado hipertenso quando apresenta pressão arterial sistólica (PAS) maior que 160 mmHg e ou pressão

arterial diastólica (PAD) maior que 90mm/mmHg ⁵. O Recente estudo Framingham mostrou que o limite para a hipertensão sistólica isolada é definido como pressão sistólica isolada de 140 a 159mmHg e a diastólica, acima de 90mmHg.

A Tabela 2 descreve os critérios diagnósticos da hipertensão arterial, segundo a IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial ¹¹. Valores de PAD e PAS, respectivamente: 85-89mmHg e 130-139mmHg indicam pressão arterial limítrofe; 90-99mmHg e 140-159mmHg indicam hipertensão arterial leve; 100-109mmHg e 160-179mmHg indicam hipertensão arterial moderada; igual ou maior que 180mmHg e maior ou igual a 180mmHg indicam hipertensão arterial grave; menor que 90mmHg e maior ou igual a 140mmHg indicam hipertensão sistólica isolada.

Tabela 2 - Classificação da pressão arterial

PAD (mmHg)	PAS (mmHg)	Classificação
<80	<120	Ótima
< 85	< 130	Normal
85-89	130-139	Limítrofe
90-99	140-159	Hipertensão leve (estágio 1)
100-109	160-179	Hipertensão moderada (estágio 2)
≥110	≥ 180	Hipertensão grave (estágio 2)
< 90	≥ 140	Hipertensão sistólica isolada

Critério diagnóstico e classificação segundo IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2002¹¹.

Segundo artigo publicado em 1998, uma amostra de 206 indivíduos da população urbana de Passo Fundo apresentou prevalência de HAS de 21,9%, o

que foi semelhante aos achados de prevalência de HAS no estado do Rio Grande do Sul por Achutti e Medeiros (17,4%) e por Fucks et al. (19,5%)⁴⁷.

Além dos fatores de risco clássicos para hipertensão arterial como gênero, idade, história familiar, dislipidemias, DM, obesidade, sedentarismo e tabagismo existem fatores de risco emergentes.

Como fatores emergentes, os polimorfismos genéticos têm sido estudados como candidatos a suscetibilidade à DCV. Recentes estudos sugerem que variações genéticas e ambientais podem influenciar na determinação dos níveis de pressão arterial do indivíduo^{16,48}. Entre alguns polimorfismos estudados está o do gene receptor de leptina (LEPR), o qual acredita-se estar associado à pressão arterial.

1.3 LEPTINA

A leptina é um hormônio secretado pelo tecido adiposo que regula, em conjunto com a insulina, a homeostase energética através do mecanismo central e periférico e é secretada em proporção à massa adiposa ²⁴.

Possui 167 aminoácidos cuja síntese ocorre principalmente no tecido adiposo e em menor quantidade no estômago e placenta. Os seus receptores estão presentes no hipotálamo, mas também nos tecidos reguladores da homeostase da glicose, incluindo músculos esqueléticos, pulmão, pâncreas e tecido adiposo ⁴⁹.

O hormônio foi descoberto, em 1994, por Friedman e colaboradores. Desde então, numerosos estudos vêm sendo realizados para elucidar o papel do hormônio na regulação do peso corporal e no balanço energético.

Sua concentração é alterada de acordo com a idade, gênero, ingestão calórica e IMC do indivíduo. Em mulheres, o hormônio pode ter concentrações séricas duas a três vezes maiores que em homens para um mesmo IMC, devido à maior porcentagem de gordura subcutânea e ao papel dos estrogênios que, por sua vez, aumentam a produção⁵⁰.

A leptina atua nos receptores expressos no hipotálamo para promover a sensação de saciedade e regular o balanço energético. Estudos sugerem que o hormônio atua no sistema nervoso central através de mediadores como o neuropeptídeo Y (NPY), o peptídeo agouti (AgRP), entre outros. Entre outras ações, a leptina ativa receptores hipotalâmicos, inibindo a secreção de NPY, reduzindo, assim, o apetite e aumentando a termogênese pela ativação do sistema nervoso simpático^{24,51,54,61}, como se pode observar na Figura 1.

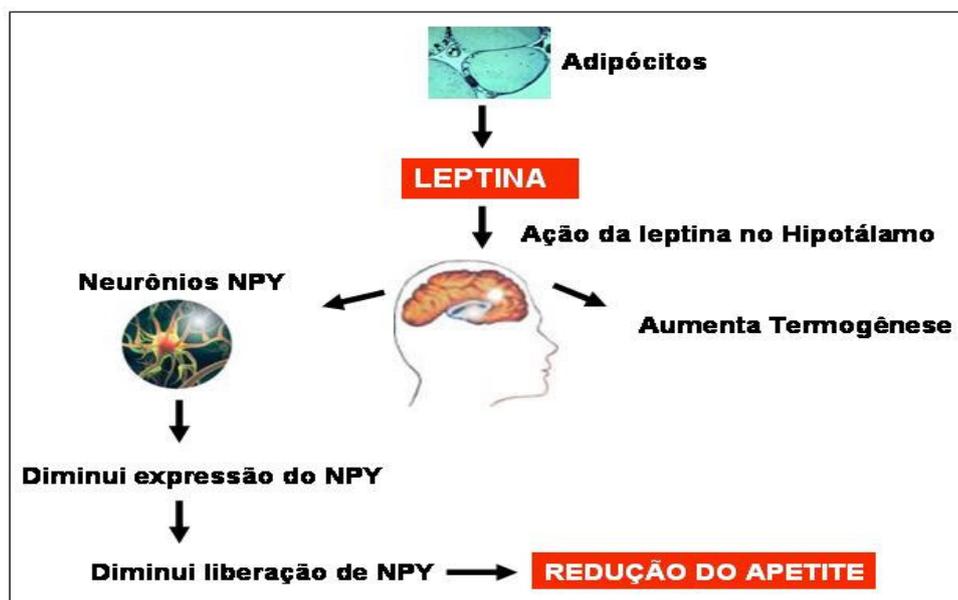


Figura 1- Via de sinalização da leptina e ações sobre o apetite e o gasto energético.

Este hormônio informa ao hipotálamo o tamanho das reservas de gordura, sendo que sua elevação leva à redução da ingestão alimentar e ao aumento do gasto energético ³⁰.

Em obesos, a concentração sanguínea de leptina é bastante elevada, demonstrando a possível resistência destes indivíduos ao hormônio e explicando, assim, o mecanismo de desenvolvimento da obesidade ⁵².

Recentemente, um estudo demonstrou que os níveis séricos de leptina decrescem em altitudes elevadas e essa associação pode explicar a baixa mortalidade cardiovascular em locais de alta altitude ⁵³.

A ação fisiológica da leptina ocorre através do receptor de leptina, o qual é encontrado em vários tecidos, incluindo hipotálamo, placenta, pâncreas, pulmão, coração, fígado, glândula adrenal e células hematopoiéticas ⁵⁴.

Diversos fatores orgânicos e ambientais podem agir sobre o nível de leptina. Em relação a este nível, o jejum e as baixas temperaturas o diminuem, a insulina e a superalimentação o aumentam. A Tabela 3 mostra os principais fatores e a correlação com os níveis de leptina ⁵⁵.

Tabela 3 - Influência dos fatores orgânicos e ambientais nos níveis de leptina

Situações	Níveis de Leptina
Perda de peso	Diminuídos
Jejum	Diminuídos
Ganho de peso	Aumentados
Super alimentação	Aumentados
Insulina	Aumentados
Glicocorticóides	Aumentados
Infecções agudas	Aumentados
Baixas temperaturas	Diminuídos
Fumo	Diminuídos
Hormônios tireoidianos	Diminuídos

Adaptado de Van Rossum et al ⁵⁵.

1.4 GENE RECEPTOR DA LEPTINA E O POLIMORFISMO Gln223Arg

O gene do receptor da leptina (LEPR) está localizado no braço longo do cromossomo 1 (1p31) e é considerado um gene predisponente da obesidade, já que regula a composição corporal ^{31,56}. Foram descritos três polimorfismos neste gene: Lys109Arg no éxon 4, Gln223Arg no éxon 6 e Lys656Asn no éxon 14 ^{57,58}, nos quais houve troca de nucleotídeos, adenina por guanina, adenina por guanina e guanina por citosina respectivamente (Figura 2).

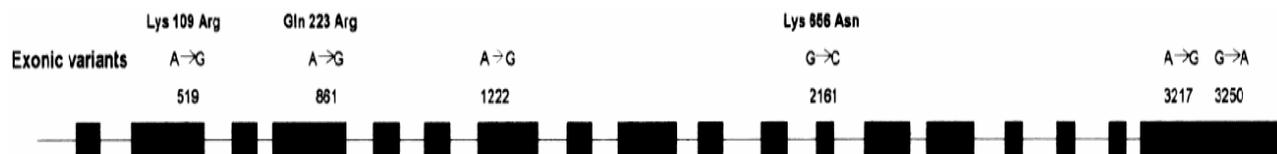


Figura 2 – Os três polimorfismos descritos no gene LEPR; Lys109Arg, Gln223Arg, Lys656Asn e suas respectivas trocas de nucleotídeos; A por G, A por G e G por C. Adaptado de Chung et al.⁵⁸

O polimorfismo Gln223Arg consiste em uma troca de um único nucleotídeo (*single nucleotide polymorphism* - SNP), ou seja, polimorfismo de um único nucleotídeo que substitui uma adenina por uma guanina, ocasionando a troca de um aminoácido glutamina (Gln) por um aminoácido arginina (Arg) no códon 223 do éxon 6^{49,57}. É considerado polimorfismo, porque a mutação ocorre com frequência acima de 1% na população.

Muitos estudos vêm sendo conduzidos a fim de aprofundar os conhecimentos sobre as conseqüências que este e outros polimorfismos podem ocasionar, bem como as interações dos polimorfismos com fatores externos como estilo de vida, por exemplo.

Os estudos investigam a relação do polimorfismo com a regulação do peso corporal, a obesidade, a distribuição da massa gorda²⁹, o nível de leptina sérica⁵⁹, o risco de diabetes mellitus⁶⁰, o câncer de mama⁵⁴ e o ganho de peso⁵⁵, entre outros.

Acredita-se que mutações no gene do receptor podem modificar sua função e afetar os níveis séricos de leptina na população em geral⁵⁵.

Estudo feito por Rosmond et al.⁵⁷ verificou que indivíduos com o genótipo AA tinham, quando comparados com os indivíduos de genótipo GG, HDL-c mais elevado, menor nível de triglicérides e menor pressão sanguínea sistólica e diastólica.

Wauters et al.⁵², no *Québec Family Study*⁶¹, observaram que este polimorfismo foi o de maior influência na massa gorda e no IMC, entre outros parâmetros.

Estudo com doze casais de gêmeos, conduzido por Ukkola et al.⁵⁶, concluiu que os indivíduos com genótipo GG eram mais susceptíveis a anormalidades metabólicas quando expostos por um longo período em balanço energético positivo.

Foram feitos poucos estudos deste polimorfismo relacionando-o a doenças cardiovasculares e hipertensão arterial, fazendo-se necessária a investigação desta possível associação a fim de compreender os mecanismos relacionados ao hormônio da leptina, seu gene receptor e a interação destes com fatores de risco cardiovascular.

1.5 HIPÓTESE GERAL

O genótipo AA do polimorfismo LEPR Gln223Arg é mais freqüente nos indivíduos com IMC elevados, HAS e dislipidemias em idosos participantes do Projeto Passo Fundo-RS.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar associação entre polimorfismo do gene do receptor da leptina (LEPR Gln223Arg) com fatores de risco cardiovascular como índice de massa corporal (IMC), colesterol total e suas frações e hipertensão arterial sistêmica (HAS).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em uma amostra de idosos (idade igual ou superior a 60 anos), de ambos os sexos, de um grupo de convivência em Passo Fundos (RS) e socialmente ativos:

1. descrever a frequência gênica e genotípica do polimorfismo LEPR Gln223Arg;
2. analisar a associação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg e IMC;
3. analisar a associação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg e colesterol total e suas frações;
4. analisar a associação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg e hipertensão arterial sistêmica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO GERAL

O estudo proposto foi observacional, descritivo-analítico e transversal.

3.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA

Foi utilizada uma amostra constituída por indivíduos participantes do Projeto Passo Fundo-RS (Divisão de Apoio ao Idoso - DATI) ⁶², os quais tiveram seus dados e medidas coletadas quando da execução da pesquisa, através da utilização de Questionário Idosos Passo Fundo 2^o/2003 (Anexo A).

O cálculo do tamanho da amostra foi estabelecido usando $\alpha=0,05$ e $\beta= 0,2$ (poder estatístico de 80%). Consideraram-se diferenças entre os grupos do polimorfismo LEPR Gln223Arg para uma variável categórica partindo de, pelo menos, 20% (20vs40) e, então, foi calculado um n de 100 indivíduos por grupo⁶³.

Como há três genótipos possíveis para o polimorfismo LEPR Gln223Arg (AA, AG, GG), se deveria ter um n previsto de 300 indivíduos.

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Como critério de inclusão se considerou todos os indivíduos cadastrados e participantes regulares do DATI (Passo Fundo), que possuíam os dados das variáveis investigadas e que tinham amostra de sangue coletados para extração de DNA.

Como critério de exclusão se considerou os indivíduos que se recusaram a participar do estudo.

3.4 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E FISIOLÓGICAS

Foi realizado exame físico e o peso, a altura e a pressão arterial foram quantificados.

Para definir o IMC foi utilizado o índice de Quetelet ($IMC = \text{peso} / \text{altura}^2$). Valores até 25Kg/m^2 foram considerados normais; entre 25 e 30Kg/m^2 , sobrepeso; acima de 30Kg/m^2 , obesidade, conforme recomendação da OMS ²².

A medida da pressão arterial seguiu as orientações e recomendações do IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial ¹¹. Foram realizadas duas medidas com intervalo de dez minutos, com o paciente em repouso e na posição sentada. Valores de pressão arterial até 140/90mmHg foram considerados normais; considerou-se hipertensos os indivíduos com pressão arterial acima de 140/90mmHg, bem como os que estavam em uso de medicação anti-hipertensiva.

3.5 ANÁLISE LABORATORIAL

3.5.1 EXAMES BIOQUÍMICOS

Para as análises bioquímicas foram coletadas amostras de sangue venoso, em tubos sem anticoagulante para quantificação do perfil lipídico (CT, HDL-c, LDL-c e TG), estando os voluntários em jejum de, no mínimo, 12 horas. Para determinação do CT, HDL-c e TG foram utilizadas técnicas enzimáticas colorimétricas e o LDL-c foi obtido através da fórmula de Friedewald ($LDL = CT - HDL - (TG/5)$).

3.5.2 EXTRAÇÃO DE DNA E GENOTIPAGEM

O DNA nuclear foi obtido a partir de leucócitos sedimentados por centrifugação do sangue total. O DNA nuclear dos leucócitos foi extraído através do *kit* de extração e purificação de DNA, *GFX Genomic Blood DNA Purification* (Amersham Bioscience, USA) e armazenado a -20°C para posterior genotipagem.

Para a genotipagem, o DNA extraído foi amplificado pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), usando-se oligonucleotídeos iniciadores específicos, desenhados pela autora, com base na seqüência do banco de dados (GeneBank no. U59251).

A mistura de reação foi constituída por 30pmol dos oligonucleotídeos iniciadores (Direto: 5'-ACCCTTTAAGCTGGGTGTCCCAAATAG-3' e Reverso: 5'-CAATATTTATGGGCTGAACTGACATT-3'), 0,5 μl do DNA, 100 μM de dNTPs, 1,5

U de Taq DNA polimerase, 20pmol de cada primer e concentração de $MgCl_2$ de 2,0 mM.

A mistura foi submetida aos seguintes ciclos: um ciclo inicial de 95°C por 3 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por um minuto, 60°C por um minuto, 72°C por um minuto e um ciclo final de 72°C por 10 minutos.

O produto amplificado contendo 330 pb foi visualizado através de eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio. Após este procedimento, o produto (10 μ L) da PCR foi clivado com a enzima de restrição *Msp* I (Promega) utilizando-se 1 unidade a 37°C por 6h. O produto da clivagem foi visualizado através de eletroforese em gel de agarose 3,5% corado com brometo de etídio (Figura 3).

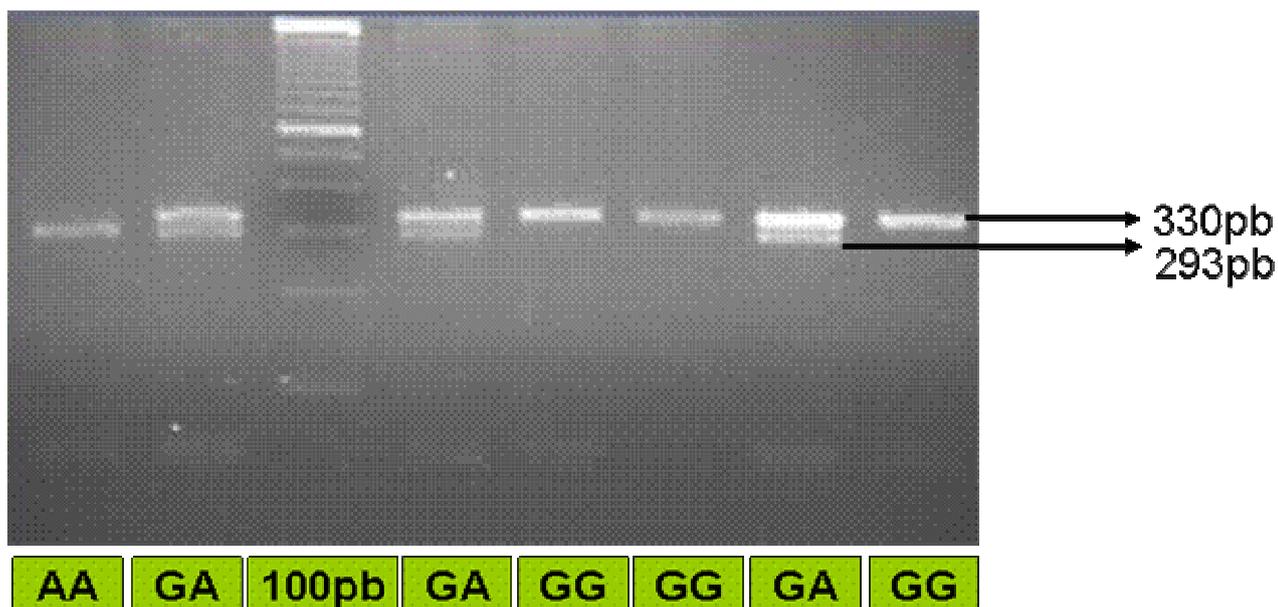


Figura 3 - Esquema da visualização em gel de agarose 3,5% corado com brometo de etídio, dos fragmentos do LEPR Gln223Arg digeridos pela endonuclease de restrição *Msp*I, gerando os três genótipos possíveis.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos foram descritos por média e desvio padrão, enquanto que os dados categóricos, por contagens e percentuais. As comparações quantitativas foram realizadas com análise de variância seguida de teste de Tukey e as categóricas, por qui-quadrado. Para avaliar a associação dos genótipos como a presença de hipertensão, foi utilizado um modelo de regressão logística múltipla ajustado para gênero, idade e massa corporal. Os dados foram analisados com o programa SPSS versão 12.0.

3.7 ÉTICA

O estudo foi realizado após a apreciação e aprovação da Comissão Científica da Faculdade de Medicina do Hospital São Lucas da PUCRS e do Comitê de Ética em Pesquisa na Área de Saúde da PUCRS, ofício nº 496/05-CEP, e seguiu as recomendações da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (Anexo B).

Os indivíduos participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo C).

4 RESULTADOS

Um total de 260 idosos (≥ 60 anos) foi incluído no estudo. Destes, 84,6% eram do gênero feminino ($n= 220$) e 15,4% eram do gênero masculino($n= 40$). A idade média da amostra foi de $69,3 \pm 6$ anos, sendo a idade mínima de 60 anos e a máxima de 89 anos.

4.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO POLIMORFISMO LEPR

Gln223Arg

As frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo Gln223Arg são apresentadas respectivamente nas Tabelas 4 e 5. A frequência do alelo G foi a mais freqüente na amostra investigada. Dos 260 indivíduos estudados, 85(32,7%) apresentaram genótipo GG, 154 (59,2%) o genótipo GA e 21 (8,1%) o genótipo AA.

Tabela 4 - Frequências alélicas do polimorfismo LEPR Gln223Arg

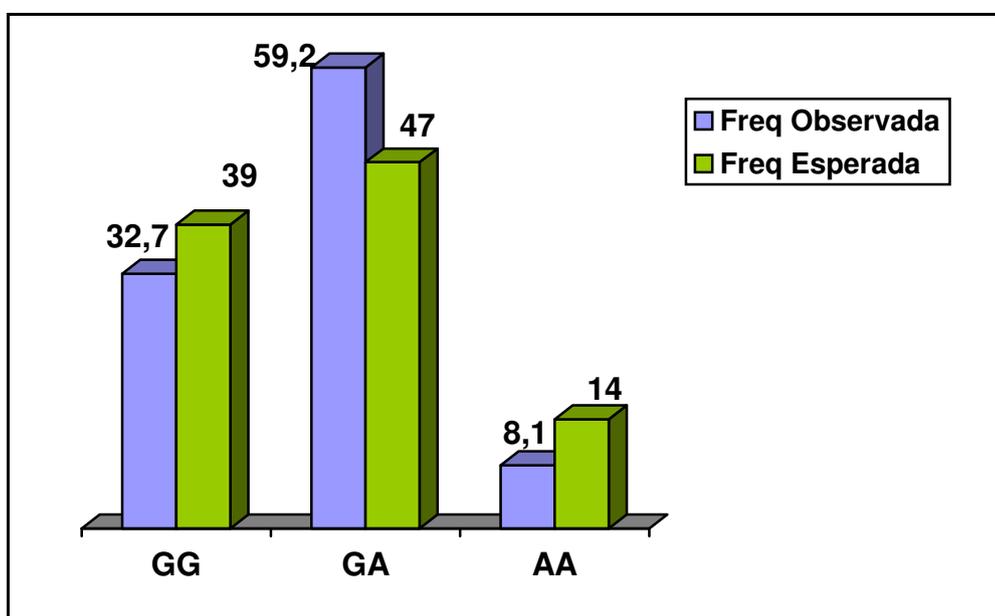
Alelos	Freqüência
G	0,624
A	0,376

Tabela 5 - Frequências genotípicas do polimorfismo LEPR Gln223Arg

Genótipo	nº	%
GG	85	32,7
GA	154	59,2
AA	21	8,1

A comparação entre as frequências genotípicas observadas e esperadas apresentou diferença estatisticamente significativa ($P < 0,001$), não estando assim em equilíbrio de Hardy-Weimberg.

As seguintes frequências genotípicas eram esperadas: GG (39%), GA (47%) e AA (14%). Porém, foram encontradas: GG (32,7%), GA (59,2%) e AA (8,1%). Estes dados podem ser observados na Figura 4.

**Figura 4 – Frequências Genotípicas observadas e esperadas do polimorfismo Gln223Arg do LEPR**

Na tabela 6 está descrita a comparação das médias das variáveis: idade, gênero, IMC, perfil lipídico (CT, HDL-c, LDL-c, TG) com os três genótipos do polimorfismo LEPR Gln223Arg. Não foi encontrada associação entre as variáveis investigadas e os genótipos.

Tabela 6 – Comparação de variáveis demográficas, lipídios e pressão arterial entre os grupos definidos pelos genótipos do polimorfismo LEPR Gln223Arg

Variáveis	GG n=85	GA n=154	AA n=21	P
Idade, anos	69,1±6,6	69,6±6,1	68,5±6,0	0,75
Gênero feminino n (%)	74 (87,1)	128 (83,1)	18 (85,7)	0,71
Gênero Masculino n (%)	11(12,9)	25(16,9)	3(14,3)	0,71
IMC, kg/m²	28,6±4,1	28,3±4,5	27,9±4,8	0,75
CT, mg/dL	210,2±33,4	210,7±37,7	214,4±31,7	0,88
HDL-C, mg/dL	55,6±7,4	55,1±8,50	58,0±7,7	0,29
LDL-C, mg/dL	127,9±34,2	128,9±34,0	131,3±40,4	0,92
TG, mg/dL	118,7±56,0	117,0±53,2	110,0±22,0	0,79
PAS, mmHg	135,5±21,2	139,3±24,3	145,0±30,9	0,22
PAD, mmHg	78,2±13,0	79,8±14,7	80,9±13,0	0,61
HAS, nº (%)	50 (58,8)	77 (50,0)	14 (66,7)	0,17

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão ou contagem (porcentagem). IMC: índice de massa corporal; CT: colesterol total; TG: triglicerídeos; PAS: pressão arterial sistêmica; PAD: pressão arterial diastólica; HAS: hipertensão arterial sistêmica; P: significância estatística. Variáveis categóricas foram comparadas por qui-quadrado. Variáveis contínuas por ANOVA one-way seguida do teste *post hoc* de Tukey

4.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO LEPR Gln223Arg e IMC

O IMC foi estratificado em três grupos: ≥ 30 ; $25 \leq$ e $\geq 29,9$ e < 25 que correspondem respectivamente a indivíduos com valores dentro do esperado, indivíduos com sobrepeso e indivíduos obesos e comparados com os genótipos como descrito na Tabela 7.

Tabela 7 – Distribuição do índice de massa corporal (IMC) entre os três genótipos

IMC, kg/m ²	GG		GA		AA	
	nº	%	nº	%	nº	%
< 25	14	16,5	31	20,3	4	19,0
25-29,9	38	44,7	75	49,0	11	52,4
≥ 30	33	38,8	47	30,7	6	28,6

Os dados são apresentados como contagem (percentual) $P= 0,74$

Encontrou-se na população estudada 18,9% (n=49) de indivíduos considerados normais; 47,9% (n=124) de indivíduos com sobrepeso e 33,2% (n=86) de indivíduos obesos.

Em relação ao polimorfismo não foi encontrada associação deste com IMC.

4.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO LEPR Gln223Arg e HAS

A prevalência de HAS foi comparada em relação aos alelos. Nesta comparação indivíduos GG não apresentavam diferença significativas em relação

aos GA e AA. (RC (razão de chance)=0,5, IC(intervalo de confiança)= 0,46-1,35, $P=0,21$). Resultado similar foi observado quando indivíduos AA foram comparados em relação aos GG e GA. (RC=0,79 IC=0,21-1,41, $P=0,39$).

Tabela 8 - Relação entre os alelos A e G e a presença de hipertensão arterial sistêmica (HAS)

Alelo	OR*	IC 95%	P
G	0,54	0,21 a 1,41	0,21
A	0,79	0,46 a 1,35	0,39

**odds ratio* obtido em modelo de regressão logística ajustado para índice de massa corporal, gênero e idade.

Uma vez que em análises estatísticas complementares foi observada associação entre HAS e gênero, foi realizada uma análise verificando a possível interveniência desta variável na associação entre HAS e o polimorfismo estudado. A análise não foi significativa e, portanto foi descartada a influencia do gênero nos resultados obtidos.

5 DISCUSSÃO

O conjunto de resultados obtidos para as variáveis investigadas não mostrou associação com o polimorfismo LEPR Gln223Arg. Tal resultado necessita ser discutido sob a luz de diversas abordagens, o que será feito a seguir.

Nesses últimos anos, tem sido observado aumento na expectativa de vida da população em todo mundo, gerando o envelhecimento populacional. Com a transição epidemiológica observou-se o aumento da prevalência das DCD.

Sabendo-se que as DCD têm influência genético-ambiental, muitos estudos têm sido realizados a fim de identificar quais genes estão relacionados ao processo de envelhecimento e, principalmente, qual é a influência da genética nas DCV e seus fatores de risco.

Recentes pesquisas investigaram a associação da leptina com IMC e hipertensão arterial e o polimorfismo Gln223Arg no receptor da mesma. Em pessoas obesas foi encontrado alto nível sérico de leptina, o que sugere uma resistência a leptina, em que vários mecanismos contribuem para a diminuição do sinal do receptor, o que pode ser explicado por mutações ou polimorfismos no receptor.⁵⁵

Como foi anteriormente comentado, no presente estudo, ao ser analisada a associação do polimorfismo LEPR Gln223Arg com IMC, não foi observada diferença significativa entre os grupos de genótipos. Este achado está de acordo com os resultados de alguns autores e contra outros. Chagnon et al.⁶¹, que estudaram esta possível associação deste e de outros dois polimorfismos no LEPR, também não encontraram diferenças significativas em nenhum dos três

polimorfismos. Wauters et al.⁶⁴ estudaram o polimorfismo em mulheres obesas e não encontraram associação com IMC ou níveis de leptina. Em 1997, Thompson et al.⁶⁵ foram os primeiros a descrever a associação entre o polimorfismo e o IMC. Quinton et al.⁵⁹, estudando mulheres pós menopausicas caucasianas, encontraram associação entre o alelo A com elevado IMC quando comparado com o alelo G.

Esta não associação pode estar ocorrendo como consequência de mais de uma causa. Entre estas, três merecem ser destacadas.

População geneticamente heterogênia

A população não seria geneticamente homogênea e este fato estaria interferindo nos resultados. A população brasileira como é sabido tem sua origem a partir de três raízes étnicas bem definidas; européia, ameríndia e africana. Esta mescla associada ao fato de que as freqüências do polimorfismo genéticos também variam dentro das populações que formam o conjunto de cada uma destas raízes (por exemplo, na européia, entre italianos, alemães, espanhóis, ingleses, etc.) fortalece a possibilidade de que um grupo de indivíduos que tenha contribuição genética muito diferenciada sejam analisados como uma única população.

Estudos mostram que variações alélicas no LEPR são caracterizadas significativamente pelo componente étnico, assim as freqüências alélicas em cada população vem se mostrando diferentes⁶⁶ como se pode observar na Tabela 9.

Tabela 9 - Variação da frequência alélica do polimorfismo LPR Gln223Arg em diferentes populações e grupos étnicos

Alelo	Presente Estudo	Wauters³¹	Quebeck⁶¹	Japonês⁶⁶	Pima⁶⁵	Heritage⁶⁷ (Negros)	Heritage⁶⁷ (Caucasianos)
G	0,62	0,52	0,55	0,15	0,25	0,49	0,54
A	0,38	0,48	0,45	0,85	0,75	0,51	0,46

Adaptado de Chagnon et al.⁶⁶.

As frequências alélicas encontradas no presente estudo (G(0,62) e A (0,38)), quando comparadas com o estudo de Wauters et al.³¹ (G (0,52) e A (0,48)), que observou caucasianos belgas, parecem ser bem semelhantes, assim como assemelha-se às frequências observadas em caucasianos do estudo Heritage⁶⁷ (G (0,54) e A (0,46) e com o estudo Quebeck⁶¹ (G(0,55) e A (0,45)). Quando comparadas com negros (G (0,49) e A (0,51)) do estudo Heritage não parecem ser semelhantes.

Quando se comparou com a frequência dos Japoneses⁶⁷ (G (0,15) e A (0,85)) e Pima⁶⁵ (G (0,25) e A (0,75)) as frequências alélicas diferem muito. Provavelmente, isto ocorre devido à grande diferença étnica entre estas populações, em que o predomínio de indivíduos de origem japonesa e de origem indiana, quando comparados com os indivíduos miscigenados deste estudo, evidencie as frequências alélicas muito diferentes.

Este fato para indivíduos caucasianos é mais contundente no RS, uma vez que neste estado sua população foi originária de levas migratórias européias,

iniciando pela chegada dos espanhóis, portugueses e seguida por alemães e italianos.

No presente estudo, inicialmente só foi identificado um desvio nas freqüências genéticas esperadas.

Esta condição corrobora a idéia de que, no momento em que foi selecionada a amostra investigada, apesar de serem provenientes da mesma região geográfica existiria predominância de algum grupo étnico.

Por esse motivo, o estudo de Stobbe et al. que desenvolveu uma investigação populacional em Passo Fundo foi consultado. Quando comparou-se a freqüência de origem étnica auto-relatada entre os idosos de Passo Fundo com idosos de Gravataí, investigados com protocolo similar, Stobbe et al. relataram uma freqüência significativamente maior de indivíduos italianos. Este resultado pode explicar os aqui descritos. Assim, sugere-se que, uma análise adicional considerando a origem étnica deva ser conduzida. Entretanto para garantir que o individuo seja realmente da etnia relatada é necessário uma investigação de origem familiar na análise dos nomes dos pais e avós na certidão de nascimento. Por este motivo, tomou-se o cuidado de não realizar uma análise adicional superficial, sob pena de se concluir resultados que não espelhem a realidade.

Plausabilidade Biológica

Os resultados obtidos também precisam ser discutidos a luz do papel do receptor da leptina na modulação fisiológica corporal associada com a obesidade.

O hormônio da leptina é controlado pelo hipotálamo e, além de ocasionar sensação de saciedade quando é liberado, é responsável pela termogênese.

Níveis elevados do hormônio estão associados à resistência à insulina que é um importante fator de risco para a síndrome metabólica e ocasiona o aumento da pressão sanguínea. Cabe lembrar que a resistência à insulina é bastante comum em idosos, onde os níveis séricos de leptina encontram-se elevados⁶⁷.

Suter et al.⁶⁸ mostraram que pacientes hipertensos apresentavam elevados níveis plasmáticos de leptina quando comparados com normotensos; mostraram também a correlação dos níveis plasmáticos do hormônio com pressão arterial sistólica.

Investigação em adolescentes japoneses evidenciou a correlação entre os níveis plasmáticos da leptina e as pressões diastólica e sistólica¹⁹.

Koistinen et al.⁶⁹ investigaram a modificação dos níveis plasmáticos de leptina de acordo com a idade e não obtiveram diferença entre os grupos etários.

Estas variações levantaram questões sobre a possível ocorrência de variação genética na produção de leptina ou na estrutura do seu receptor. Por isso, investigações no gene receptor da leptina começaram a ser realizadas após os estudos correlacionando a leptina aos níveis de pressão arterial.

Rosmond et al.³² examinaram, em homens, os polimorfismos: Lys109Arg, Gln223Arg e Lys656Asn do gene LEPR. Observaram que os homocigotos Lys109 (LL) e homocigotos Arg223 (AA) apresentavam baixos IMC, bem como baixas PAS e PAD. Os homocigotos Arg223(AA) apresentavam menores pressões que os homocigotos Gln223 (GG), sugerindo, assim, a associação da leptina com a regulação da pressão sanguínea, através do receptor da leptina e mostrando as alterações que os polimorfismos podem causar.

No presente estudo, como se pode observar na tabela 6 e 8, também não se notou associação entre o polimorfismo estudado e HAS, mesmo quando ajustado para IMC, gênero e idade.

Mais estudos com relação à hipertensão e o polimorfismo devem ser realizados a fim de esclarecer melhor esta possível associação.

Chiu et al ²⁵ foram os primeiros a observar a associação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg e a resistência à insulina. Constataram que a presença do alelo A é fator de risco para resistência à insulina e que indivíduos, que possuíam este alelo apresentavam níveis elevados de CT e LDL-c, quando comparados a indivíduos sem a presença do alelo. Sendo, então, propensos à síndrome metabólica.

No presente estudo, tentou-se verificar a associação dos lipídeos com o polimorfismo LEPR Gln223Arg, porém não se encontrou relação entre os lipídios dosados (CT, HDL-c, LDL-c) e os genótipos.

O conjunto destes resultados, incluindo a presente investigação sugere que apesar de biologicamente plausíveis que variações genéticas poderiam modular diferencialmente os níveis ou mesmo a ação da leptina, parece que esta associação não seria somente determinada pela genética podendo estar ocorrendo interação gene-ambiente. Por este motivo investigações complementares analisando o papel da nutrição e atividade física na associação entre o polimorfismo da LEPR e obesidade e HAS, são muito necessárias. Como dito antes, este achado indica que a população estudada não está em equilíbrio, isto é, na amostra investigada pode estar havendo um viés de amostragem, talvez pelo fato de que os sujeitos pesquisados fossem aqueles que tiveram acesso ao local das entrevistas - análises antropométricas e fisiológicas e coleta de sangue

do projeto Passo Fundo - e este fosse restrito aos idosos do grupo de convivência. Este desequilíbrio pode justificar a ausência de associação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg e as variáveis estudadas.

Pode ter ocorrido vieses de seleção, em que apenas os idosos mais dispostos e com condições de chegar ao local da entrevista ou os mais necessitados de avaliações clínicas, tenham sido cadastrados.

Por se tratar de uma pesquisa em um grupo de idosos (idade igual ou superior a 60 anos), é possível que os indivíduos com fatores de risco para a síndrome metabólica como HAS, obesidade, dislipidemias, DM ou mesmo a síndrome já tivessem vindo a óbito antes de chegar a esta idade, o que explicaria a não-associação do polimorfismo LEPR Gln223Arg com as variáveis propostas neste estudo.

Cabe aqui salientar que pouco se sabe da relação entre o polimorfismo LEPR Gln223Arg com fatores de risco cardiovascular e síndrome metabólica na população idosa. A grande parte dos estudos relacionados ao polimorfismo pesquisou indivíduos jovens, tais como adolescentes e adultos.

Estudo de caso controle entre indivíduos com fatores de risco cardiovascular ou síndrome metabólica e indivíduos sem estes fatores de risco, deve ser realizado a fim de elucidar a possível associação ou não do polimorfismo a estes fatores. Para finalizar é importante que algumas limitações do estudo seja elencadas como: a própria questão relacionada com a origem étnica; ser um estudo caso-controle que impõe limitações em relação a estudos longitudinais; existirem outros polimorfismos no gene do receptor de leptina que poderiam amenizar ou ampliar o efeito deste polimorfismo no peso corporal. Entretanto, apesar destas limitações, investigações sobre o papel dos genes em fatores de

risco como obesidade e HAS são relevantes já que estas morbididades estão relacionadas com morbi-mortalidade por doenças cardiovasculares.

CONCLUSÕES

Um total de 260 idosos participantes de um grupo de convivência, residentes em Passo Fundo (RS) foram pesquisados, sendo 84,6% do gênero feminino e 15,4% do gênero masculino.

A frequência do alelo G na população estudada foi de 0,624 e do alelo A foi de 0,376.

A frequência dos genótipos GG, GA e AA foi, respectivamente, 32,7%, 59,2% e 8,1%.

Não foi encontrada associação entre o polimorfismo do LEPR Gln223Arg e o índice de massa corporal.

Não foi encontrada associação entre o polimorfismo do LEPR Gln223Arg e CT, HDL-c e LDL-c.

Não foi encontrada associação entre o polimorfismo do LEPR Gln223Arg e hipertensão arterial sistêmica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gaziano JM. Global burden of cardiovascular disease. In: Braunwald E, Zipes DR, Libby P, editors. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p.1-19.
2. Ministério da saúde. Anuário estatístico de 2001.[citado 2005marc30] Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/anuario2001/index.cfm>
3. Brasil. Ministério da Saúde. Mortalidade – Município: Passo Fundo/RS. [Citado 2005 mar 28] Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/tabfusion/tabfusion.cfm>
4. Lopes, HF. Hipertensão, obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica. Rev Bras Hipertensão. 2005; 12(3), 154-58.
5. AmadoTCF, Arruda IK. Hipertensão arterial no idoso e fatores de risco associados. Rev Bras Nutr Clin. 2004;19(2):94-9.
6. Jeckel-Neto,EA;DA Cunha, GL. Teorias biológicas do envelhecimento. In:Freitas, EV et al. org. Tratado de Geriatria e Gerontologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.13-9.
7. Troen RB. The Biology of Aging. The Mount Sinai Journal of Medicine. 2003;70(1):3-22.
8. Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Pediatria, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Hipertensão. I Diretriz de prevenção da aterosclerose na infância e na adolescência. 2005;
9. Da Cruz IBM, Taufer M, Moriguchi EH. Geriatria genômica.In: Salzano,FM et al. org.Genômica.São Paulo: Atheneu,2004.
10. PrimaPagina. Expectativa de vida no Brasil supera 70 anos, diz IBGE. [Citado 2005 mar 23] Disponível em:
http://primapagina.terra.com.br/mat_prt.php?contador=3004
11. Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Nefrologia. IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. 2002 1-3: Campos do Jordão, SP, Brasil.
12. Lessa I, Araújo MJ, Magalhães L, Almeida Filho N, Aquino E, Costa MCR. Simultaneidade de fatores de risco cardiovascular modificáveis na população adulta de Salvador(BA), Brasil.Rev Panam Salud Publica. 2004;16(2):131-7.

-
13. Gottlieb, MG. LDL-oxidada como fator de risco cardiovascular emergente: um estudo de associação com fatores de risco cardiovasculares clássicos com os polimorfismos genéticos da apolipoproteína E (APOE) e da ALA16VAL da enzima superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD). [dissertação de mestrado] Porto Alegre, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2004.163p.
 14. Libby P. The Forgotten Majority. Unfinished business in cardiovascular risk reduction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(7):125-28.
 15. Santos Filho RD, Martinez TLR. Fatores de risco para doença cardiovascular: velhos e novos fatores de risco, velhos problemas! *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002;46(3):212-14
 16. Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N, Stokes J III. Factors of risk in the development of coronary heart disease-six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med*.1961;55:33-50.
 17. Guang-da X, Xiang-Jiu Y, Lin-Shuang Z, Zhi-Song C, Yu-Sheng H. Apolipoprotein e4 allele and the risk of CAD death in type 2 diabetes mellitus with ischaemia electrocardiographic change. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005;68(3):223-9.
 18. Chiappelli M, Tampieri C, Tumini E, Porcellini E, Caldarera CM, Nanni S, Branzi A, Lio D, Caruso M, Hoffmann E, Caruso C, Licastro F. Interleukin-6 gene polymorphism is an age-dependent risk factor for myocardial infarction in men. *Int J Immunogenet*. 2005;32(6):349-53.
 - 19 Hirose H, Saito I, Tsujioka M, Mori M, Kawabe H, Saruta T. The obese gene product, leptin: possible role in obesity-related hypertension in adolescents. *J Hypertens*. 1998; 16(12Pt 2):2007-12.
 20. Chiu KC, Chu A, Chuang LM, Mohammed Saad. Association of leptin receptor polymorphism with insuline resistance. *European Journal of Endocrinology*.2004;150: 725-29.
 21. Basaran P, Basaran N, Tas I, Tamer MN. Contemporary approaches into obesity:drugs and genes. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2004; 44(6):419-25.
 22. World Health Organization.Physical status: the use and interpretation of anthropometry.Geneva:WHO;1995.
 23. Abrantes MM, Lamounier JA, Colosimo EA. Prevalência de sobrepeso e obesidade nas regiões nordeste e sudeste do Brasil.*Rev Assoc Méd Bras*. 2003; 49(2): 162-6.
 24. Halpern ZSC, Rodrigues MDB, da Costa RF. Determinantes fisiológicos do controle do peso e apetite.*Rev Psiq Clin*. 2004,31(4); 150-53.

-
25. Scull, LER. Obesidade: fisiologia, etiologia e fisiopatologia. *Rev Cubana Endocrinol.* 2003;14(2).
 26. Repetto G, Rizzolli J, Bonato C. Prevalência, riscos e soluções na obesidade e sobrepeso: here, there, and everywhere. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003;47(6): 633-35.
 27. Marques-Lopes I, Mart A, Moreno-Aliaga MJ, Martínez A. Aspectos genéticos da obesidade. *Rev Nutr Campinas.* 2004;17(3):327-38.
 28. Lopez de Fez CM, Gaztelu MT, Rubio T, Castaño A. Mechanisms of hypertension in obesity. *An Sist Sanit Navar.* 2004;27(2):211-9.
 29. Cabrera MAS, Jacob Filho W. Obesidade em idosos: prevalência, distribuição e associação com hábitos e co-morbidades. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2001;45 (5) :494-501.
 30. Rodrigues AM, Suplicy HL, Radominski RB. Controle neuroendócrino do peso corporal; Implicações na gênese da obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003;47(4): 398-409.
 31. Wauters M, Mertens I, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC; et al. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *International Journal of Obesity.* 2001; 25, 714-20.
 32. Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, Chagnon M, Pérusse L, Lindell K, et al. Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2000;85(9), 3126-31.
 33. Diretrizes brasileiras sobre dislipidemia e prevenção de aterosclerose, 2001. *Arq Bras Cardiol.* 2001; 77(3).
 34. Projeto Diretrizes. 2001 [Citado 2005dez12] Disponível em http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes
 35. Cullen P, Funke H, Schulte H, Assmann G. Lipoproteins and cardiovascular risk--from genetics to CHD prevention. *Eur Heart J.* 1998 ;19 Suppl C:C5-11.
 36. Assmann G, Cullen P, Schulte H. The Munster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. *Eur Heart J.* 1998;19 Suppl A:A2-11
 37. Assmann G, Schulte H, Funke H, von Eckardstein A. The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease. *Eur Heart J.* 1998;19 Suppl M:M 8-14.
 38. Gotto AM. Evolving Concepts of Dislipidemia, atherosclerosis, and cardiovascular Disease *Journal of the American College of Cardiology.* 2005. 46(7):1219-24.

-
39. Bhavani AB, Sastry KB, Reddy NK, Padma T. Lipid profile and apolipoprotein E polymorphism in essential hypertension. *Indian Heart J.* 2005;57(2):151-7.
 40. Miltiados G, Hatzivassiliou M, Liberopoulos E, Bairaktari E, Tselepis A, Cariolou M, Elisaf M. Gene polymorphisms affecting HDL-cholesterol levels in the normolipidemic population. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2005;15(3):219-24.
 41. Szalai C, Keszei M, Duba J, Prohaszka Z, Kozma GT, Csaszar A, et al. Polymorphism in the promoter region of the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased susceptibility for coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2004;173(1):109-14.
 42. Klos KL, Hamon S, Clark AG, Boerwinkle E, Liu K, Sing CF. APOA5 polymorphisms influence plasma triglycerides in young, healthy African Americans and whites of the CARDIA Study. *J Lipid Res.* 2005;46(3):564-71.
 43. Mammès O, Betoulle D, Aubert R, Herbeth B, Siest G, Fumeron F. Association of the G2548A polymorphism in the 5' region of the LEP gene with overweight. *Ann Hum Genet.* 2000;64:391-94.
 44. Andrade FM, Hutz MH. O componente genético da determinação de lipídeos séricos. *Ciência e Saúde Coletiva.* 2002;7(1):175-82.
 45. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *The Lancet.* 2005;365:1415-28.
 46. Organização Mundial de Saúde. Comitê de Especialistas em Controle de Hipertensão Arterial. Relatório do Comitê da OMS. Geneva 1996; Série de informes técnicos nº 862.
 47. Trindade IS, Heineck G, Machado JR et al. Prevalência da hipertensão arterial sistêmica na população urbana de Passo Fundo (RS). *Arq Bras Cardiol.* 1998; 71(2), 127-30.
 48. Pereira AC, Krieger JE. Dos fatores de riscos clássicos ao perfil de risco individualizado. *Hipertensão.* 2005; 8(4),131-37.
 49. Lakka TA, Rankinen T, Weisnagel SJ, et al. Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and changes in glucose homeostasis in response to regular exercise in nondiabetic individuals: The HERITAGE family study. *Diabetes.* 2004; vol 53(6):1603-8.
 50. Silva, EFS. Leptina. *Rev Invest Clin.* 2002;54(2):161-65.
 51. Barroso SG, de Abreu VG, Francischetti EA. A participação do tecido adiposo visceral na gênese da hipertensão e doença cardiovascular aterogênica. Um conceito emergente. *Arq Bras Cardiol.* 2002;78(6): 618-30.

-
52. Wauters M, Mertens I, Chagnon T et al. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *International Journal of Obesity*. 2001; 25:714-20.
53. Cabrera de Leon A, Gonzáles DA, Méndez LI, Aguirre-Jaime A, del Cristo Rodríguez Péres M, Coello SD, Trujillo IC. Leptin and altitude in cardiovascular diseases. *Obes Res*. 2004;12(9):1492-8.
54. Woo HY, Park H, Chang SK, Park YL, Bae GB. Relationships among serum leptin, leptin receptor gene polymorphisms, and breast cancer in Korea. *Cancer Letters*, 2005;
55. Van Rossum CT, Hoebee B, Van Baak MA, Mars M, Saris WH, Seidell, JC. Genetic variation in the leptin receptor gene, leptin, and weight gain in young Dutch adults. *Obes Res*. 2003;11(3):377-86.
56. Ukkola O, Tremblay A, Despres J-P, Chagnon YC, Campfield LA, Bouchard C. Leptin receptor Gln223Arg variant is associated with a cluster of metabolic abnormalities in response to long-term overfeeding. *Journal Internal Medicine*. 2000;248:435-39.
57. Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, et al Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. *JCE&M*. 2000; vol 85(9).
58. Chung WK, Power-Kehoe L, Chua M, Chu F, Aronne L, Huma Z, et al. Exonic and intronic sequence variation in the human leptin receptor gene (LEPR). *Diabetes*. 1997; 46(9): 1509-11.
59. Quinton ND, Lee AJ, Ross RJM, Eastell R, Blakemore AIF. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet*. 2001;108:233-36.
60. Salopuro T, Pulkkinen L, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, et al. Genetic variation in leptin receptor gene is associated with type 2 diabetes and body weight: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29(10):1245-51.
61. Chagnon YC, Chung WK, Péruss L, Chagnon M, Leibel RL, Bouchard C. Linkages and associations between the leptin receptor (LEPR) gene and human body composition in the Québec family study. *International Journal of Obesity*. 1999;23, 278-86.
62. Stobbe, JC. Projeto Passo Fundo-RS: indicadores de saúde de participantes de um grupo de terceira idade. [dissertação de mestrado] Porto Alegre, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2004. 131p.
63. Jeckel FJ, Elmores GJ, Katz ID. *Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva*. 1999.

-
64. Wauters M, Mertens I, Van Gaal L, Bouchard C. Association between leptin receptor gene polymorphisms and obesity related phenotypes in obese women. *International Journal of Obesity*.1999;23:S33.
 65. Thompson DB, et al. Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet*. 1997; 6(5):675-9.
 66. Chagnon YC, Wilmore JH, Borecki I, Gagnon J, Pérusse L, Chagnon M, et al. Association between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the HERITAGE family study. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000; 85(1):29-34.
 67. Agata J, Masuda A, Takada M, Higashiura K, Murakami H, Miyazaki Y, et al. High plasma immunoreactive leptin level in essential hypertension. *Am J Hypertens*.1997;10(10Pt):1171-4.
 68. Suter PM, Locher R, Hasler E, Vetter W. Is there a role of the ob gene product leptin in essential hypertension? *Am J Hypertens*.1998;11(11Pt1):1305-11.
 69. Koistinen HA, Koivisto VA, Karonen SL, Ronnema T, Tilvis RS. Serum leptin and longevity. *Aging(Milano)*. 1998;10(6):449-54.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)