

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM
EDUCAÇÃO FÍSICA

**Associação do polimorfismo *Apal* do gene *IGF-2* com a força e a
massa muscular em idosas brasileiras**

Maria Alcione Freitas e Silva

**Brasília/DF
2008**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

MARIA ALCIONE FREITAS E SILVA

Associação do polimorfismo *Apal* do gene *IGF-2* com a força e a massa muscular em idosas brasileiras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Educação Física da Universidade Católica de Brasília, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Jacó de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Rinaldo Wellerson Pereira

Brasília/DF

2008

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais,
Ademar e Lourdes, aos meus irmãozinhos,
Júnior e Jorge e ao meu amorzinho Daniel.*

**OBRIGADA POR TUDO EU AMO MUITO
VOCÊS!!!**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceber uma família maravilhosa, por ter colocado pessoas tão especiais no meu caminho e por me dar saúde e força para conseguir conquistar os meus objetivos.

Aos meus pais, Ademar e Lourdes, que estiveram ausentes apenas na distância, mas presentes de coração durante esta jornada de muito suor e lágrimas, pelo amor, educação, confiança, apoio que sempre me deram e por não pouparem esforços para me ajudar na conquista dos meus sonhos e claro pelo apoio financeiro sem o qual nada disso seria realidade. **VOCÊS SÃO TUDO PARA MIM!!!**

Aos meus irmãos, Júnior e Jorge, pelo amor incondicional, e por sempre estarem ao meu lado transmitindo paciência, dando força e me encorajando para que eu conseguisse seguir em frente... **VOCÊS SÃO DEMAIS!!!**

Ao meu amorzinho Daniel por tudo que fez para que eu conseguisse concretizar esta meta, pelo amor, carinho, paciência, pela ajuda na bancada, pelo companheirismo nos momentos difíceis em que passei, enfim por tudo. Ah e claro pela Mel que sempre me traz muita alegria e carinho. **SEMPRE SEREI GRATA A VOCÊ, TE AMO!!!**

Aos meus avós, familiares e a minha cunhadinha Clécia, que de alguma forma sempre estiveram presentes nesta caminhada, com certeza vocês são muito especiais para mim. Em especial a minha avó Maria que sempre me apoiou nesta trajetória. Obrigada por tudo!!!

Ao meu orientador professor Dr. Ricardo Jacó de Oliveira, pela compreensão ao longo destes anos, pelo apoio que sempre me deu, pelas sábias orientações e pela paciência e por inúmeras outras razões. **VALEU!!!**

Ao meu co-orientador professor Rinaldo Wellerson Pereira pela forma que sempre me recebeu e orientou, sem ele este trabalho jamais seria desenvolvido, pela disponibilidade constante em ajudar a descobrir os erros no laboratório.

A professora e amiga Geni de Araújo Costa que foi responsável pelo meu interesse na área científica, pelo carinho, apoio, e por sempre acreditar no meu potencial.

A todos os professores da Universidade Federal de Uberlândia, por me apoiarem na busca deste sonho, por me ajudarem na antecipação da colação de grau, em especial ao professor “Cacau” (*in memoriam*), que faleceu enquanto lutava pela minha colação.

A todos os meus amigos de Uberlândia que sempre acreditaram no meu potencial, estiveram ao meu lado em todos os momentos a Gabrielle, a Dayanne, a Fernanda Rodrigues, ao Luciano, a Cristina, a Thaís Vasconcelos, a Lauren, a Flávia, ao Marcelo e ao Bira pelos quais agradeço a todos os demais que algum dia fizeram ou que fazem parte da minha vida, e assim me tudo sempre me apoiaram a continuar os estudos. Estendo os meus agradecimentos a todos os alunos da Performance Academia que me apoiaram e incentivaram a fazer o mestrado, em especial ao Marcos e a Tânia;

Aos meus amigos de Goianésia que sempre me apoiaram e pelo carinho;

A todos os membros do corpo docente do Mestrado em Educação Física da Universidade Católica de Brasília que estiveram presentes nesta caminhada ao longo destes dois anos.

Aos amigos que conquistei na secretária do mestrado e que sempre se preocuparam muito comigo, mais especificamente a Cida por ter me apoiado no início desta jornada, ao Weslen por sempre me socorrer, pelo companheirismo, a Sabrina pelos inúmeros favores, pela amizade pela forma que sempre me tratou, a Alessandra pelo coleguismo, tranqüilidade, pela ajuda em diversas etapas. Obrigada por tudo, vocês foram nota 10.

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia pela paciência, pelos ensinamentos na bancada, pelo carinho e receptividade que sempre tiveram comigo, agradeço em especial ao Rodrigo, Elisa, Érika, Haony, Priscila, Ana Claudia, Dione.

Ao meu amigo e médico Ronaldo Benford pela ajuda na coleta dos dados, por se preocupar comigo quando fiquei doente e pelo carinho.

As pessoas muito especiais ao longo destes dois anos que com certeza fazem parte das amizades conquistadas em Brasília, a Fabi, a Luciana baiana, ao Antonio Baianinho, Rômulo entre muitos outros, obrigada por tudo!!

Agradeço à grande amiga Meire, pelo companheirismo, carinho, alegrias, paciência e por me acolher juntamente com sua família.

Agradeço ao meu amigo Luiz Humberto pela amizade, pelo companheirismo, pelas dicas e pelas palavras de incentivo que sempre me derá.

Ao Cláudio Toledo, e seus filhos pela acolhida em Brasília, pelo carinho, atenção e por tudo que fizeram por mim. Muito obrigada!!!

A toda a família da Loja Maçônica Vigilantes da Ordem que me apoiaram na conquista deste sonho. As minhas irmãs filhas de Jó do Bethel Áurea do Triângulo, pelo carinho, apoio e por me ajudarem sempre quando precisei.

A todos os colegas do grupo de estudo Atividade Física e Genética que estiveram presente em minha vida ao longo destes dois anos e claro a Grassyara.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação Stricto Sensu em Educação Física da Universidade Católica de Brasília, pelo companheirismo ao longo de todo o processo.

A toda a equipe do Laboratório de Avaliação Física e Treinamento (LAFIT), em especial ao Carlos Ernesto Santos Ferreira e Marcelo Pereira Sales que me

apoiaram na coleta dos dados, pela dedicação, amizade, pelos favores ao longo desta jornada.

Aos alunos do projeto AFRID/UFU pelo carinho, atenção e por me incentivaram a continuar estudando esta população.

A todas as idosas que fizeram parte deste estudo, pelo carinho, pela responsabilidade, dedicação, com certeza vocês foram essenciais para a realização deste trabalho. Gostaria de agradecer em especial a senhora Izabel de Souza (*in memoriam*), 82 anos, que faleceu fazendo a musculação no dia 06/08 quando eu estava fazendo as correções finais deste trabalho. Descanse em paz!!!

Aos funcionários da Universidade Católica de Brasília que me ajudaram a trilhar este caminho com carinho e sabedoria;

A CAPES pela bolsa concedida que foi fundamental para a realização deste estudo;

Por fim, agradeço a todos aqueles que porventura não foram aqui mencionados, mas que de alguma forma me ajudaram nessa árdua, porém gratificante, jornada que foi esse Mestrado.

Fica aqui o meu muito obrigada e um forte abraço a todos!!!

EPÍGRAFE

INTENSIDADE

*O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e
pessoas incomparáveis.
(Fernando Pessoa)*

RESUMO

Associação do polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 com a força e massa muscular em idosas brasileiras

O envelhecimento provoca redução de massa e de força muscular diminuindo a capacidade das idosas realizarem as atividades de vida diária, podendo levar à dependência, a morbidade e a mortalidade. Entre os fatores que contribuem para os idosos tornarem-se fisicamente debilitados encontra-se a sarcopenia, influenciada por fatores genéticos e ambientais. Entre poucos genes conhecidos que influenciam na sarcopenia está o gene candidato fator de crescimento semelhante à insulina 2 (IGF-2) que atua na proliferação das células satélites (HAUGK *et al.*, 1995) e na diminuição da expressão do gene associada à idade em resposta as lesões musculares (MARSH *et al.*, 1997), além disso, está relacionado com às perdas associadas a quantidade de força e massa muscular (JI, 2001). Esse estudo teve o propósito de investigar a associação entre o polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 e os fenótipos força e massa muscular considerando-se os padrões de atividade física. Participaram do estudo 252 brasileiras com idade média de $66,94 \pm 5,59$ anos; $66,39 \pm 13,24$ kg de massa corporal e $1,53 \pm 0,07$ m de estatura, as quais tiveram a força muscular mensurada pelo isocinético Biodex, a MLG não óssea analisada através do DXA e responderam um questionário para caracterização da amostra e determinação do nível de atividade física. O DNA genômico extraído de amostra sanguínea foi genotipado para o polimorfismo *Apal* do gene IGF-2. A análise one-way ANOVA mostrou que não houve diferença significativa entre as variáveis idade, massa corporal, estatura, IMC e o percentual de gordura ($p > 0,05$). A análise de covariância (ANCOVA) demonstrou que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos genotípicos (GG, GA, AA) com os fenótipos analisados (massa livre de gordura e força muscular isocinética). Portanto, não foram encontradas associações significativas entre o polimorfismo *Apal* do IGF-2 com a força muscular isocinética e a massa livre de gordura.

Palavras chave: *IGF-2*, força, massa livre de gordura, idosas.

ABSTRACT

Association between the *ApaI* polymorphism of the gene IGF-2 with the strength and muscle mass in Brazilian female elders

Aging evokes reduction of mass and muscle strength and diminish the ability of elderly carry out activities of daily life, may lead to dependence, the morbidity and mortality. Among the factors that contribute to the elderly become physically debilitated is the sarcopenia, influenced by genetic and environmental factors. Among few known genes that influence the sarcopenia is the candidate gene Insulin-like growth factor 2 (IGF-2) which operates the proliferation of satellite cells (HAUGK *et al.*, 1995) and reduced the expression of the gene associated with age in response to muscle injury (MARSH *et al.*, 1997), moreover, is related to the losses associated with the amount of strength and muscle mass (JI, 2001). This study was the purpose of investigating the association between the *ApaI* polymorphism of the gene IGF-2 and phenotypes strength and muscle mass considering the patterns of physical activity. Two hundred and fifty two Brazilian postmenopausal women participated in the study, with a mean age of 66.94 ± 5.59 years; body weight of 66.39 ± 13.24 kg and height of $1,53 \pm 0,07$ m. The muscle which had the force measured by the isokinetic Biodex, FFM not examined by DXA bone and answered a questionnaire for sample characterization and determine the level of physical activity. The DNA extracted from blood sample was genotyped for the *ApaI* polymorphism of the gene IGF-2. The one-way ANOVA analysis showed no significant difference between the age, body weight, height, BMI and percentage fat ($p>0,05$). The analysis of covariance showed that there was no statistically significant differences between groups genotypic (GG, GA, AA) with phenotypes examined (FFM and isokinetic muscle strength). Therefore, no significant associations were found between the *ApaI* polymorphism of IGF-2 with the isokinetic muscle strength and weight free of fat.

Keywords: IGF-2, strength, fat free mass, elders.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Projeção da população brasileira com 80 anos ou mais de idade por sexo, entre 1980-2050	24
FIGURA 2: Fatores relacionados ao declínio da massa e força muscular associada com a idade.....	27
FIGURA 3: Alterações na massa muscular relacionada com a idade, em uma secção transversal na coxa, de duas pessoas com IMC similar.....	28
FIGURA 4: Desenho esquemático ilustrando a progressiva perda de massa muscular	28
FIGURA 5: Desenho esquemático do IGF-2 destacando sua localização no braço curto do cromossomo 11 (11p15.5)	33
FIGURA 6: DXA modelo Lunar DPX-IQ (Lunar Corporation, Madison, WI, USA)	42
FIGURA 7: Biodex System III® (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY)	44
FIGURA 8: Coleta de sangue através da veia antecubital	46
FIGURA 9: Quantificação do DNA	49
FIGURA 10: Termociclador da marca GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA)	50
FIGURA 11: Fragmentos de DNA separados por eletroforese em gel de agarose...51	
FIGURA 12: Fragmentos do polimorfismo do gene IGF-2 com a enzima de restrição <i>Apa</i> I separados por eletroforese em gel de agarose (4%)	53
FIGURA 13: Distribuição dos genótipos do polimorfismo <i>Apa</i> I do gene IGF-2	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Médias e desvios padrão das características da amostra	55
TABELA 2: Características de tabagismo, obesidade, cor de pele autodefinida, nível de atividade física e autodefinição da perna dominante.	56
TABELA 3: Frequência genotípica do SNP rs680 analisado no gene IGF-2.....	57
TABELA 4: Características físicas (médias e desvios padrão) da amostra em relação aos genótipos do polimorfismo <i>Apal</i> do gene IGF-2	58
TABELA 5: Fenótipos ajustados (média e erro padrão) e não ajustados (média e desvio-padrão) para os genótipos do SNP rs680 do IGF-2 utilizando as covariáveis controladas.....	59

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1: Estudos realizados em diferentes países referente ao percentual de gordura.....	60
QUADRO 2: Estudos prévios que avaliaram a MLG em mulheres	62
QUADRO 3: Estudo prévio que avaliaram a força isocinética por meio do dinamômetro isocinético.....	65
QUADRO 4: Estudos prévios com a distribuição da frequência alélica do polimorfismo <i>Apal</i> do gene IGF-2.....	66
QUADRO 5: Comparações dos resultados encontrados no presente estudo e no estudo de Schragger e seus colaboradores.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS

A – adenina;

ACE - Enzima conversora de angiotensina I (do inglês, Angiotensin I converting enzyme);

ANCOVA – análise de covariância (do inglês, analysis of covariance);

ANOVA – análise de variância (do inglês, analysis of variance);

AVD – Atividade de Vida Diária;

CEP – Comitê de ética em pesquisa;

CNTF - Fator neurotrófico ciliar (do inglês, Ciliary neurotrophic factor);

DNA - ácido desoxirribonucléico (do inglês, deoxyribonucleic acid);

dNTP – deoxiribonucleotídeo trifosfato (do inglês, deoxyribonucleotide triphosphate);

DXA – Absortometria por raios-X de dupla energia (do inglês, dual energy X-ray absorptiometry);

EDTA - ácido etilenodiaminotetracético (do inglês, ethylenediaminetetracetic acid);

G – guanina;

GDF-8 - Fator de diferenciação do crescimento tipo 8/miostatina (do inglês, Growth differentiation factor 8/myostatin);

GH – hormônio do crescimento (do inglês, growth hormone);

HCl – ácido clorídrico;

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

IGF-2 - Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 2 (do inglês, Insulin-like growth factor 2);

IGF-2R – Receptor do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 2 (do inglês, Insulin-like growth factor 2);

IMC – índice de massa corporal;

IPAQ - Questionário internacional de atividade física (do inglês, International Physical Activity Questionnaire);

LAFIT – Laboratório de ciências genômicas e biotecnologia;

LEEFS - Laboratório de estudos em educação física e saúde;

MgCl₂ – cloreto de magnésio;

MLG – massa livre de gordura;

MLGA – massa livre de gordura apendicular;

MLGAR – massa livre de gordura apendicular relativa;

MLGT – massa livre de gordura total;

MLGTR – massa livre de gordura total relativa;

n – número de voluntárias da amostra;

NaCl - Cloreto de sódio;

NCBI - Centro Nacional para Informação em Biotecnologia (do inglês, National Center for Biotechnology Information);

p – nível de significância;

PA – Pressão arterial;

pb – pares de base;

PCR – Reação em cadeia da polimerase (do inglês, polymerase chain reaction);

PT – Pico de troque;

RFLP – Polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição (do inglês, restriction fragment length polymorphism);

SDS – Dodecil sulfato de sódio (do inglês, sodium dodecyl sulfate);

SNP - Polimorfismo de um único nucleotídeo (do inglês, Single Nucleotide Polymorphism);

SPSS – Pacote estatístico para as ciências sociais (do inglês, Statistical Package for the Social Sciences);

Taq – *Thermus aquaticus*;

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido;

TE – Tampão tris EDTA;

UCB – Universidade Católica de Brasília;

VDR - Receptor de vitamina D (do inglês, Vitamin D receptor);

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	OBJETIVO	22
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
3.1	ENVELHECIMENTO.....	23
3.2	SISTEMA MUSCULAR.....	26
3.3	SARCOPENIA	26
3.4	FORÇA	30
3.5	GENES QUE SE ASSOCIAM COM FORÇA E MASSA MUSCULAR	32
3.6	IGF-2.....	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	DELINEAMENTO DA PESQUISA	37
4.2	POPULAÇÃO.....	37
4.3	AMOSTRA	37
4.4	PROCEDIMENTOS	39
4.4.1	Cuidados Éticos	39
4.4.2	Para a Coleta de Dados.....	39
4.5	CARACTERIZAÇÃO DOS NÍVEIS DE ATIVIDADE FÍSICA	40
4.6	ANTROPOMETRIA.....	41
4.7	MASSA MUSCULAR	41
4.8	FORÇA	43
4.9	ANÁLISE DO DNA.....	46
4.9.1	Coleta Sanguínea	46
4.9.2	Extração do DNA	47
4.9.3	Quantificação do DNA	48
4.10	POLIMORFISMO ESTUDADO NO GENE IGF-2.....	49
4.11	AMPLIFICAÇÃO DO DNA	50
4.12	GENOTIPAGEM DO IGF-2.....	52
4.13	TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	53
5	RESULTADOS.....	55
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	55

5.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE OS GENÓTIPOS DO SNP RS680 NO IGF-2 E OS FENÓTIPOS.....	57
6 DISCUSSÃO.....	59
7 CONCLUSÃO	69
8 SUGESTÕES.....	69
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
ANEXOS	84
10 ANEXOS.....	85
ANEXO A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	85
ANEXO B: Aprovação do Comitê de Ética	91
ANEXO C: Questionário de Caracterização da Amostra.....	92
ANEXO D: Questionário Internacional de Atividade Física – Versão Longa	93

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento é um processo lento e gradativo, além disso, ocorre em diferentes ritmos para cada pessoa de acordo com as influências socioculturais, físicas, psicológicas, econômicas e genéticas ao longo da vida (GUERREIRO, RODRIGUES, 1999). A redução da massa muscular e a diminuição da força comprometem o desempenho neuromotor, podendo este comprometimento avançar até que uma pessoa idosa não possa realizar mais as atividades da vida diária (AVD). Por isso é importante manter a força muscular ao longo do envelhecimento, porque ela é vital para a saúde, para a capacidade funcional e para a vida independente (FLECK e KRAEMER, 1999; RABELO *et al.*, 2004). Além da perda de força, a capacidade do músculo de exercer força rapidamente (potência) parece diminuir com a idade. Essa habilidade é essencial e pode servir como um mecanismo protetor nas quedas, uma das causas mais importantes de lesões. Com o passar dos anos tanto os homens quanto as mulheres apresentam crescentes limitações no desempenho das tarefas básicas. Estes declínios associados à idade levam a perda tanto da massa quanto da força muscular, podendo levar à dependência de outras pessoas para realizarem as capacidades funcionais além de aumentar as taxas de ferimentos ocasionados por quedas levando ao aumento da morbidade e mortalidade (BASSEY *et al.*, 1992; METTER *et al.*, 2002).

Entre os fatores que contribuem para os idosos tornarem-se fisicamente debilitados encontram-se a sarcopenia, que consiste na diminuição da massa e da função muscular. Por isso está associada à perda da força muscular relacionada ao envelhecimento (ROSEMBERG, 1989; ROUBENOFF *et al.*, 1997; FIATARONE *et al.*, 1990). Gollnick (1981) citou que o número de fibras musculares são

determinados imediatamente após o nascimento. Baseando nisso, Kuh *et al.* (2002) sugeriram que os indivíduos com hipoplasia (poucas fibras musculares) do músculo esquelético ao nascimento podem ter predisposição às perdas do potencial tanto da massa quanto da força muscular debilitando o indivíduo com o decorrer dos anos. Para Sherrard (1998), a força máxima é atingida por volta dos 25 anos de idade e permanece no platô até em torno dos 35 anos, e o começo das perdas acentuadas acontece em torno dos 65 anos de idade. Alguns estudos têm encontrado contribuições genéticas com relação à força (REED *et al.*, 1991) e a massa muscular (ABNEY *et al.*, 2001), no entanto, algumas pesquisas encontraram significativas relações entre a massa muscular do crescimento pré-natal com indivíduos adultos (GALE *et al.*, 2001) e com a força de preensão palmar (KUH *et al.*, 2002). Existem alguns estudos relacionando genes com a força e a massa muscular, entre eles podemos citar os estudos de Kahn *et al.* (2000), Gale *et al.*, (2001), Kuh *et al.*, (2002), Lima *et al.*, (2007). Atualmente a temática genética e atividade física atraem a atenção de inúmeros pesquisadores, entretanto, ainda não está claro qual a influência que os polimorfismos dos genes como o receptor de vitamina D (VDR), o fator neurotrófico ciliar (CNTF), a enzima conversora de angiotensina (ACE), fator de diferenciação do crescimento tipo 8/miostatina (GDF-8) e o fator de crescimento semelhante a insulina - tipo 2 (IGF-2) exercem sobre a força e a massa muscular de idosos. Entre os genes relacionados com a força, massa muscular e composição corporal está o IGF-2 que possui influências significativas na composição corporal, no peso ao nascimento e na força de preensão do adulto (O'DELL *et al.*, 1997; SAYER *et al.*, 2002).

Sabe-se que em alguns anos a população idosa representará grande parte da população brasileira e que está é composta por uma heterogeneidade étnica muito

ampla diferentemente dos outros países, por isso, esta população é considerada interessante para pesquisas genéticas. Nesse sentido, este estudo de associação procura identificar qual a influência do polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 com relação aos fenótipos massa muscular e força isocinética após o início das perdas destes fenótipos devido ao avanço da idade, pois assim contribuiria para melhorar significativamente a qualidade de vida das pessoas idosas, prevenindo lesões e mantendo a capacidade funcional, o que possibilitará o direcionamento das práticas preventivas mais adequadas para cada indivíduo, diminuindo o risco de desenvolvimento de doenças e distúrbios, como a sarcopenia, associados a morbidade e a mortalidade. Após vasta revisão bibliográfica foi observado que há poucos estudos sobre a perda de massa muscular e força isocinética associada com as influências genéticas, especificamente com o gene IGF-2. Dessa forma, esse estudo poderá contribuir para aumentar o conteúdo de pesquisas dessa natureza na literatura e possibilitará confrontar os resultados encontrados nesta pesquisa com os dados obtidos em estudos de outras populações.

2 OBJETIVO

Verificar a associação do polimorfismo *ApaI* do gene IGF-2 com os fenótipos força e massa muscular levando em conta os padrões de atividade física em idosas brasileiras.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Inicialmente foi realizado um amplo levantamento bibliográfico sobre os temas: envelhecimento, força, massa muscular e o polimorfismo *Apal* do gene IGF-2, posteriormente, foi averiguado a existência de poucos estudos relacionando este gene específico com a força e a massa muscular em idosas brasileiras.

3.1 ENVELHECIMENTO

O Brasil está deixando de ser caracterizado como um “país de jovens”, pois a população tem apresentado mudanças nas taxas médias de crescimento, alterando as estruturas etárias. Em 1900, 44% da população estavam na faixa entre 0-14 e 3,3% com mais de 60 anos. Já em 1991, 34,7% estavam 0-14 anos e 7,4% com mais de 60 anos. Essa progressão anuncia para 2025 uma duplicação do número da população brasileira idosa para 15,1% (PASCHOAL, 2000). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1999), em quatro anos, 1995 – 1999, o número de pessoas idosas com idade igual ou acima de 60 anos cresceu 14,5%, passando de 7,6% para 8,3% o número de idosos e de 9,0% para 9,8% o número de idosas. O envelhecimento da população é um processo lento, porém contínuo. Em 2000, as mulheres idosas representavam aproximadamente 55,1%, isso se deve a diferenciada taxa de mortalidade por sexo que fica mais evidente no decorrer da idade. Estima-se que em 2025 nosso país será a sexta nação com o maior número de idosos do mundo, aproximadamente 30 milhões de pessoas com idade igual ou superior a 60 anos (KACHAR, 2003; ARDEO *et al.*, 2004).

Em 2050, de acordo com as projeções realizadas pelo IBGE, haverá um aumento significativo do número de idosos com 80 anos ou mais da população brasileira (figura 1), isso se deve pelo aumento da expectativa de vida e pela diminuição da fecundidade e da mortalidade entre outros (IBGE, 2004).

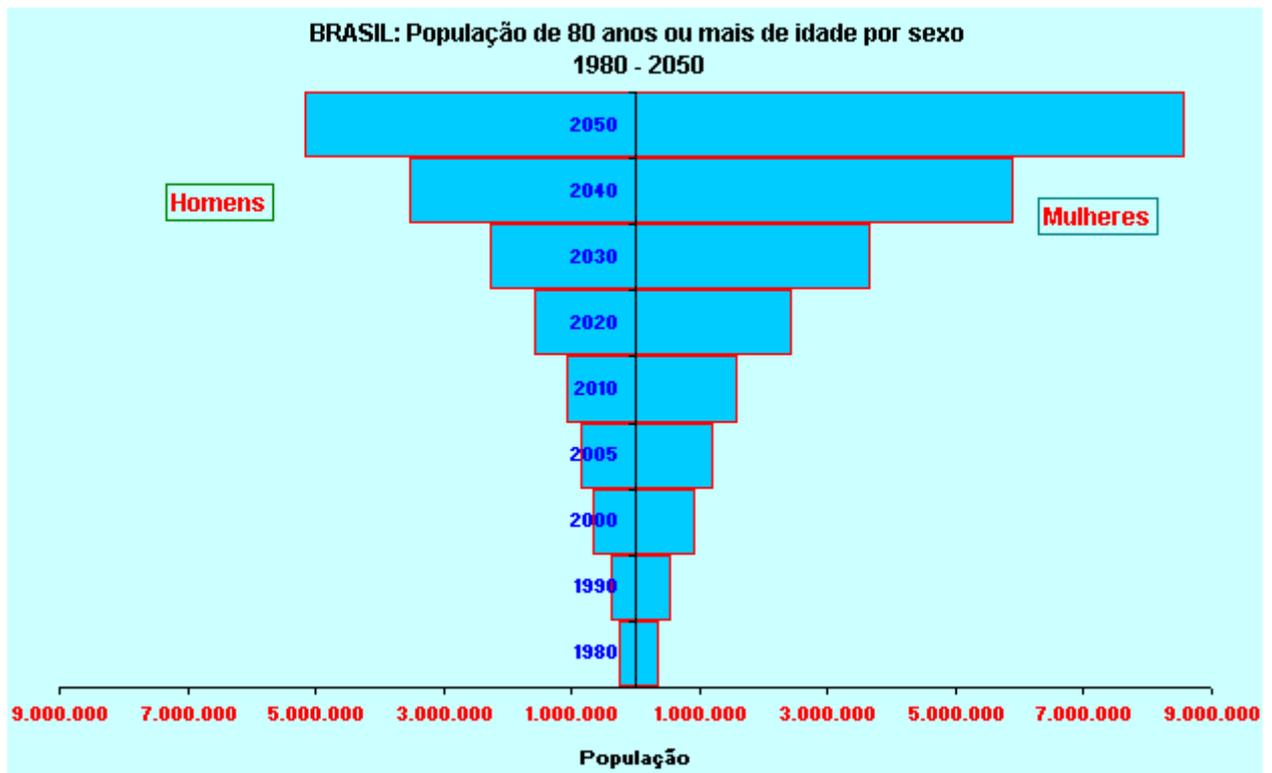


FIGURA 1: Projeção da população brasileira com 80 anos ou mais de idade por sexo, entre 1980-2050.

Fonte: IBGE, 2004

De acordo com a pesquisa sobre este tema realizada na literatura percebe-se que o envelhecimento ocorre, em razão de alguns aspectos, como o aumento da expectativa de vida vinculado ao decréscimo da taxa de fecundidade ocasionado pelo controle da natalidade, atribuída em grande parte ao avanço técnico e científico da medicina no controle e prevenção das doenças, pela diminuição da taxa de mortalidade causada por doenças transmissíveis passando a predominar o aumento desta taxa ocasionado pelas doenças não-transmissíveis e por causas externas, levando ao aumento de gastos com saúde. Sabe-se ainda, que fatores como o meio ambiente, o estilo de vida, o hábito de fumar, a alimentação, a prática de atividade

física entre outros, influenciam na velocidade e intensidade do processo de perda muscular e no envelhecimento de cada indivíduo (BURCKHARDT, MICHEL, 1989; NEWITT, 1994; BERGLUND *et al.*, 2000; GÜR *et al.*, 2003).

Para Litvoc (2004) o envelhecimento é um processo irreversível, que atinge a maioria das pessoas em qualquer população e caracteriza-se por uma progressiva deterioração na capacidade do organismo de adaptar-se às mudanças ambientais, resultando numa maior vulnerabilidade a doenças e à morte. Alguns estudos como o de Forbes e Reina (1970) e Frontera *et al.*, (1991), relataram que com o envelhecimento ocorrem algumas alterações na composição corporal como a redução do teor de água, aumento de gordura e declínio da massa muscular esquelética. Litvoc (2004) cita que o envelhecimento do organismo humano é um processo caracterizado pelo declínio funcional dos diversos sistemas orgânicos, com redução da capacidade de manter a homeostase normal e de responder a fatores de estresse endógenos e exógenos. Esse autor ainda relata que as explicações para esse fenômeno podem ser divididas em dois grupos principais: as que invocam razões genéticas e as que procuram interações bioquímicas de cunho estocástico ou probabilístico, que, embora sejam específicas para cada espécie, poderiam, em tese, ser moduladas pelo ambiente. A interação de fatores genéticos e neuroendócrinos, juntamente com fatores decorrentes do ambiente onde vive o indivíduo, tais como nutrição, doenças, níveis socioeconômico e de atividade físicas influenciam nas alterações fisiológicas normais que incidem no declínio da capacidade funcional dos órgãos e sistemas à medida que a idade avança (SCROLL, 1994).

3.2 SISTEMA MUSCULAR

Diversos hormônios desempenham um papel importante na proteína muscular, como o hormônio da tireóide, hormônio do crescimento (GH), a testosterona, a insulina, o cortisol dentre outros. Entre esses diversos hormônios podemos destacar a miostatina que é uma proteína secretada que funciona como regulador negativo de massa muscular (McNALLY, 2004). Na fase embrionária é expressa no músculo esquelético e atua na regulação do número de fibras musculares formadas, e na vida adulta tende a limitar o crescimento das fibras musculares (LEE, 2004). Na faixa etária entre os 40 e 60 anos de idade ocorre o aumento da massa corporal e a perda gradativa da estatura corporal. Estes fatores são responsáveis pela diminuição da massa óssea e da massa livre de gordura, pelo aumento da gordura corporal, alterações nas quantidades de minerais, água, proteínas e potássio (MATSUDO *et al.*, 2000). Alguns autores relatam que as perdas na massa e força muscular associadas com a idade têm efeitos prejudiciais na capacidade funcional, nas lesões, morbidade e na mortalidade (FIATARONE *et al.*, 1990; BASSEY *et al.*, 1992; METTER *et al.*, 2002).

3.3 SARCOPENIA

Sarcopenia é uma palavra de origem grega que literalmente significa “perda de carne”, perda da massa muscular (DUTTA, 1997), (sarx = carne e penia = perda). Este termo refere-se às várias mudanças relacionadas as funções e a composição corporal. Para Raso *et al.* (1997), a sarcopenia pode ser definida como o decréscimo da capacidade neuromuscular com o decorrer da idade, sendo caracterizada

principalmente pela diminuição da quantidade e da habilidade das proteínas contráteis exercerem tensão necessária para vencer uma resistência externa à realização de uma tarefa. Os principais fatores que influenciam na sarcopenia são: a perda de motoneurônios (DOHERTY *et al.*, 1993), a redução na ingestão de alimentos (MORLEY *et al.*, 2001), e a inatividade física (EVANS, 2002). Além destes, os fatores genéticos também contribuem para a variabilidade da massa e da força muscular. A figura 2 ilustra esquematicamente a influência dos fatores que contribuem para o declínio de força e massa muscular.

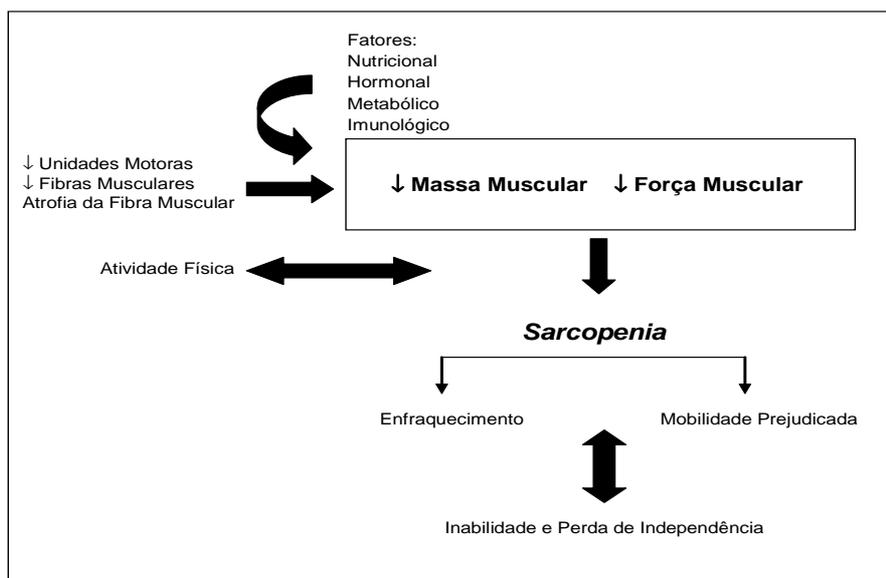


FIGURA 2: Fatores relacionados ao declínio da massa e força muscular associada com a idade.

FONTE: adaptado de DOHERTY, 2003.

De acordo com Rosenberg (1989), a sarcopenia refere-se à perda da massa muscular e o declínio na qualidade do músculo observada com aumento da idade. Não existe declínio funcional e estrutural tão dramático quanto o da massa magra, particularmente o da massa muscular esquelética com o passar do tempo (ROSENBERG, 1997). Este mesmo autor relata que a perda da massa muscular

acontece até mesmo durante o envelhecimento saudável, porém deve ser considerada como uma doença apenas quando impossibilitar o indivíduo de exercer a aptidão funcional. As figuras 3 e 4 mostram, respectivamente, as alterações na massa muscular relacionadas com a idade e a progressiva perda de massa muscular.

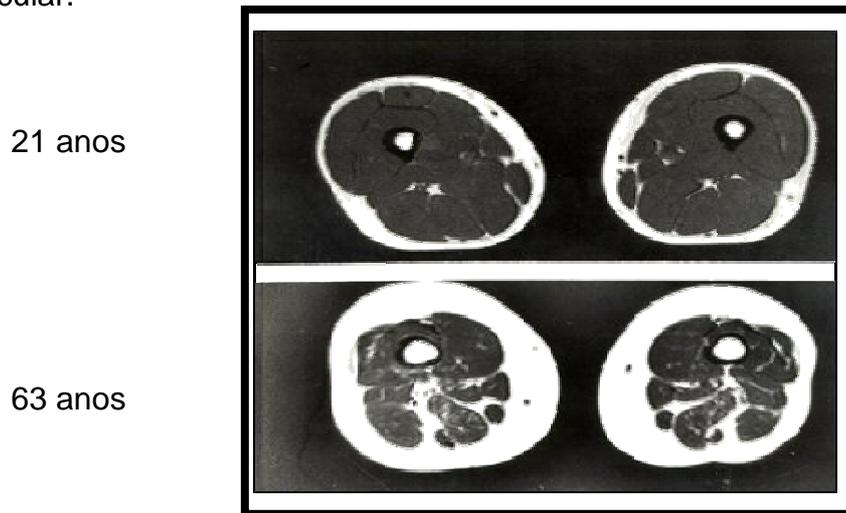


FIGURA 3: Alterações na massa muscular relacionada com a idade, em uma secção transversal na coxa, de duas pessoas com IMC similar.

FONTE: adaptado de <http://www.gtxinc.com/graphics/bmi.jpg>



FIGURA 4: Desenho esquemático ilustrando a progressiva perda de massa muscular.

FONTE: <http://www.folstaxan.com/images/sarcopenia.gif>

De acordo com Freitas *et al.*, (2002) com o envelhecimento, há uma diminuição lenta e progressiva da massa muscular, sendo o tecido paulatinamente substituído por colágeno e gordura. No estudo de Young *et al.*, (1985) utilizando a técnica de ultra-sonografia para avaliar a área de secção transversa do músculo quadríceps encontrou redução de 35% tanto nos homens como nas mulheres quando comparados a adultos jovens. Corroborando com este estudo, Overand *et al.*, (1992) utilizou a tomografia computadorizada para avaliar a área de secção transversa do músculo quadríceps e também encontraram reduções na área.

Sabe-se que a diminuição da massa muscular (quantitativa e qualitativa), é a principal razão para a redução na capacidade de produzir força. De acordo com Kamel, (2003) o idoso pode evoluir para a perda da independência funcional e uma maior dificuldade na realização das atividades da vida diária (DUTTA, 1997). Alterações músculo-esqueléticas estão relacionadas com perda ou diminuição funcional que refletem no metabolismo basal, na função renal, na função cardíaca, na capacidade vital e na função pulmonar, o que potencialmente propicia o organismo ao acúmulo de doenças crônicas como diabetes, hipertensão osteoporose e obesidade. Concomitantemente como conseqüências da sarcopenia, ocorrem alterações no sistema nervoso e redução de secreções hormonais, o que conjuntamente acarreta problemas na marcha e no equilíbrio, aumentando o risco de quedas e fraturas (DUTTA, 1997; ROSENBERG, 1997; EVANS, 1997), aumentando a prevalência de incapacidade e dependência funcional em idosos. É interessante ressaltar que estas mudanças são mais pronunciadas nas mulheres (RICE e LaPLANTE, 1992; GURALNIK, 1995; EVANS, 1997).

3.4 FORÇA

A falta de força para carregar uma sacola de mantimentos para casa, por exemplo, pode demonstrar mudanças intrínsecas na propriedade de contração muscular, nas características de fadiga e/ou na quantidade de sangue que flui para os músculos (DUTTA, 1997). A dificuldade em levantar de uma cadeira, levantar da cama, a diminuição na velocidade do passo, problemas de equilíbrio, quedas e risco de fraturas são reflexos de fraqueza nas extremidades inferiores do corpo (EVANS, 1997). A principal razão para a redução na capacidade de produzir força relacionada com a idade é a diminuição da massa muscular esquelética (KLEIN, RICE e MARSH, 2001), ocasionada principalmente pela perda das fibras musculares glicolíticas - tipo II (DUTTA, 1997; ROSENBERG, 1997; KAMEL, 2003), pela perda gradual dos motoneurônios (DOHERTY, 2003), assim também como pela perda da quantidade e qualidade das proteínas contráteis (FLECK e KRAMER, 1999; GOODPASTER *et al.*, 2001) levando o idoso a dependência funcional.

No estudo de Larsson *et al.*, (1979) realizado com 114 homens, entre 11 e 70 anos, encontraram que a força do quadríceps aumenta até aproximadamente 30 anos e diminui expressivamente após os 50 anos, devido a atrofia das fibras musculares tipo II. Frontera *et al.*, (1991), relataram que os níveis de força isométrica do quadríceps de homens jovens com idade entre 20 e 35 anos, são de aproximadamente 30 a 47% maior do que a força relatada em idosos. Evans (1996) ressalta que a maioria dos estudos em cortes transversais, demonstram que a diminuição da força, decorrente do envelhecimento, está associada a perda da massa muscular. Já Lindle *et al.*, (1997) realizou um estudo transversal no qual comparou os níveis de força isométrica do quadríceps em mulheres, e encontraram que o declínio da força acontece mais cedo do que nos homens, porém este declínio

ocorre em um ritmo mais lento. Além disso, comparando uma base percentual, a perda de força total com relação à idade é menor nas mulheres do que nos homens (STALBERG *et al.*, 1989; FRONTERA *et al.*, 1991).

Frontera *et al.* (2000), relata que a força dos músculos extensores do joelho serve para prever a dependência dos idosos e que não há muitos estudos longitudinais de força comparando mudanças na função do músculo com as devidas alterações no tipo de fibra muscular. Estes autores avaliaram as mudanças na força dos músculos flexores e extensores dos joelhos e cotovelos e na área de secção transversa do quadríceps ao longo de 12 anos, e encontraram uma significativa redução na área de secção transversa e na força isocinética da musculatura analisada, sugerindo que estas reduções tornassem os idosos mais frágeis e debilitados. Hughes *et al.* (2001) realizou um estudo com homens e mulheres por 10 anos no qual avaliou as modificações na força dos músculos flexores e extensores do cotovelo e joelho. Os resultados mostraram que as mulheres apresentaram uma queda mais lenta do que os homens quanto aos flexores e extensores dos cotovelos e, tanto os homens quanto as mulheres tiveram um declínio na força isocinética dos músculos extensores e flexores do joelho respectivamente de 14% e 16% em média.

Baseando nos dados encontrados na literatura sabe-se que o envelhecimento, a diminuição da massa magra e a queda progressiva da força podem levar o idoso a redução da capacidade funcional, prejudicando o desempenho das tarefas de vida diária (REEVES, NARICI, MAGANARIS, 2004), contribuindo para o declínio da independência (FLYNN *et al.*, 1999) e diminuição do nível de atividade física (ROTH *et al.*, 2000).

3.5 GENES QUE SE ASSOCIAM COM FORÇA E MASSA MUSCULAR

Alguns estudos verificaram a associação entre genes candidatos e os fenótipos de massa e força muscular. Dentre estes genes podemos destacar o VDR, ACE, CNTF. Roth *et al.*, (2004) encontraram uma associação significativa entre a massa livre de gordura (MLG) e o polimorfismo *FokI* do gene VDR em idosos caucasianos mas, enfatizaram a necessidade de novos estudos para verificar outras variações alélicas. Já Lima (2006b) investigou a associação entre os polimorfismos do gene VDR com a massa livre de gordura em 191 mulheres brasileiras pós-menopausadas e não neste estudo não houve associação dos polimorfismos analisados do gene VDR com os fenótipos de massa livre de gordura.

Em um estudo realizado por Folland *et al.* (2000) com 33 homens jovens ativos, verificaram os efeitos dos genótipos do gene ACE sobre as mudanças na força do quadríceps depois de nove semanas de um programa de treinamento. Observaram que os indivíduos com o alelo D mostraram maior ganho de força do que os indivíduos com o alelo I após o treinamento isométrico.

No estudo de Roth *et al.*, (2001) foi analisado a relação entre o CNTF e força muscular em 494 homens e mulheres saudáveis. Eles encontraram que os indivíduos heterozigotos (G/A) para a mutação nula do CNTF apresentaram maior pico de torque concêntrico dos músculos extensores e flexores do joelho que indivíduos homozigotos (G/G). Quando a massa livre de gordura dominante foi usada no lugar da massa corporal, o pico de torque concêntrico de extensores de joelho também foi significativamente melhor nos indivíduos (G/A). Os dados encontrados indicam que indivíduos exibindo o genótipo (G/A) possuem melhor força, qualidade muscular e contração relativamente mais rápida do que indivíduos

(G/G). Já Souza (2007) realizou um estudo de associação entre SNPs do CNTF com os fenótipos da massa livre de gordura, levando em conta a ancestralidade genômica em 190 idosas brasileiras pós-menopausadas. Neste estudo não encontraram associação significativa entre os polimorfismos do CNTF e os fenótipos musculares.

3.6 IGF-2

O gene fator de crescimento semelhante à insulina 2 (IGF-2), também conhecido como somatomedina A, localizado no braço curto, 11p15.5 (Figura 5), do cromossomo 11 (TRICOLI *et al.*, 1994) constituído por 9 exons (SCHOFIELD, 1991), codifica um polipeptídeo membro da família dos fatores de crescimento semelhante a insulina que é envolvido no desenvolvimento e no crescimento (NCBI, 2006) secretado pelo fígado e outros tecidos. O gene IGF-2 é expresso durante o desenvolvimento embrionário, principalmente no crescimento placentário (CONSTANCIA *et al.*, 2002). O polimorfismo estudado foi o *Apal*, SNP RS680, localizado na região 3' não traduzida.

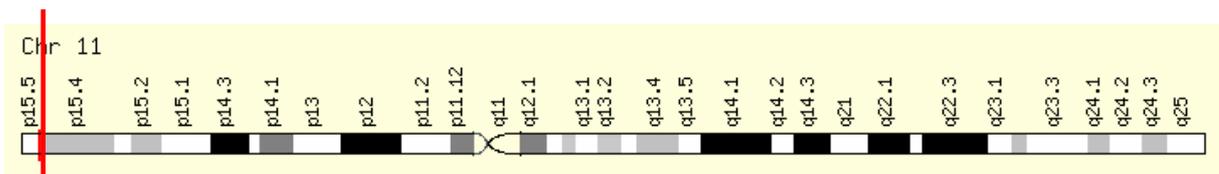


FIGURA 5: Desenho esquemático do IGF-2 destacando sua localização no braço curto do cromossomo 11 (11p15.5).

FONTE: genecards (extraído em 10/10/2006 – www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IGF-2&pubmed=202)

Em seres humanos o IGF-2 é igualmente expresso em adultos com transcrições resultantes de um promotor específico (PAGTER-HOLTHUIZEN *et al.*, 1987), já em ratos a região do gene correspondente aos humanos contém dois

pseudo-exons explicando porque a expressão do IGF-2 cessa após o nascimento em ratos e não nos seres humanos (ROTWEIN, HALL, 1990). Trata-se de um gene *imprinted* e é expresso somente no alelo paterno e inativo no genoma materno. O *imprinting* genômico é uma forma de expressão gênica em que uma determinada modificação na região do gene causa uma expressão diferenciada dos alelos, levando em conta a origem parental. Quando não ocorre essa mutação tem-se uma expressão mono-alélica paterna sendo o alelo materno silenciado (TORETSKY, 1996). Por sua vez, o genoma materno expressa o gene receptor do fator de crescimento semelhante a insulina tipo 2 (*IGF-2R*) que codifica uma proteína que degrada o excesso do fator de crescimento *IGF-2*; em contrapartida, este gene está mutilado no genoma paterno.

O IGF-2 tem importantes funções, entre as quais podemos citar a proliferação das células satélites (HAUGK *et al.*, 1995), a diminuição da expressão do gene associada à idade na resposta as lesões musculares (MARSH *et al.*, 1997), além disso, está relacionado com as perdas associadas com a quantidade de força e massa muscular dos homens (JI, 2001). Um importante papel do IGF-2 é ser o principal regulador do crescimento fetal e placentário demonstrado pelo reduzido crescimento pré-natal de camundongos quando há ausência de um alelo funcional (DeCHIARA, 1991; BAKER, 1993).

Alguns estudos relataram associações significativas entre o polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 e fenótipos musculares, como o de Gomes *et al.*, (2005) realizaram um estudo no qual testaram a associação entre o genótipo *IGF-2/Apal* e o IMC, que corresponde à razão entre a massa corporal (kg) e o quadrado da altura (m²). Para a realização deste estudo foi utilizada uma amostra de 101 voluntários, com idade entre 18 e 30 anos, sendo 44 homens e 57 mulheres. Ainda neste estudo foram

relacionados os resultados de 89 pessoas com o peso ao nascimento. A genotipagem do *IGF-2/Alpa1* foi realizada a partir de DNA (sangue periférico) através do método da reação em cadeia da polimerase (PCR) e do polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição (RFLP). As freqüências genótípicas observadas foram 12 (12,3%) A/A, 47 (45,6%) A/G e 42 (42,1%) G/G. As freqüências alélicas foram $f(A)=p=0,35$ e $f(G)=q=0,65$. A aplicação do teste Qui-quadrado revelou que não havia diferença significativa entre as freqüências observadas e esperadas ($p<0,05$). A comparação das médias dos pesos ao nascimento apresentou diferenças estatisticamente significativas entre A/A e G/G, sendo os portadores do genótipo G/G em média 0,639kg mais pesados. Quanto ao IMC atual, os resultados não foram significativos, mesmo separando em 2 grupos (IMC = 25-30 e IMC > 30).

Sayer et al., (2002) que realizaram uma pesquisa para determinar se o polimorfismo do gene IGF-2 influencia no controle da força em adultos e medidas da associação entre o tamanho no nascimento e o controle da força na vida mais tarde. Para a realização desta pesquisa foi constituída uma amostra composta por 693 indivíduos, sendo 397 homens e 296 mulheres, nascidos entre o ano de 1920 e 1930. Foi realizada a mensuração da força de preensão manual, coletada amostras de sangue para a extração do DNA e a genotipagem. Para a análise dos dados os alelos foram codificados em G ou A e por tanto, houve a formação de três grupos: GG, GA e AA. Após análise verificaram que nos homens o genótipo GG apresentou força de preensão manual menor do que nos homens de genótipo AA, no entanto, com relação às mulheres não foi encontrada diferença significativa.

O estudo de Schragger et al., (2004), avaliou a influência do polimorfismo *Alpa1* do gene IGF-2 com a massa corporal livre de gordura, a força muscular dos braços e das pernas. A amostra foi composta por 579 indivíduos de ambos os sexos, sendo

divididos em dois grupos a partir do estudo longitudinal de Baltimore. O grupo I composto por 94 homens e o grupo II por 246 homens e 239 mulheres. O estudo foi analisado durante 42 anos. Após a análise dos dados verificou-se que a força isocinética de braço foi significativamente menor em homens A/A do que em homens G/G. Já as mulheres A/A tiveram uma quantidade menor de massa corpórea livre de gordura, menor força isocinética de braço e de pernas, do que as mulheres de G/G. Além disso, estas diferenças entre os grupos dos genótipos foram mantidas nos 65 anos e ao longo da vida. Nenhuma diferença do genótipo associado às perdas da força de preensão palmar ou a força das pernas foi encontrado no grupo I. Os resultados do grupo II sustentam a hipótese de que a variação dentro de um gene conhecido influencia o desenvolvimento do músculo afetado, da massa muscular e da função do músculo na idade avançada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Para a realização deste projeto foi utilizado um corte transversal, no qual os genótipos do gene IGF-2 são as variáveis independentes e, a força e a massa muscular são as variáveis dependentes (THOMAS, NELSON, 2002).

4.2 POPULAÇÃO

A população desta pesquisa foi composta por idosas pós-menopausadas residentes no Distrito Federal e entorno.

4.3 AMOSTRA

O recrutamento das voluntárias foi realizado por meio de ligações telefônicas e panfletagem, nas quais as voluntárias eram convidadas a participar da palestra sobre o panorama da pesquisa. Para fazer parte da amostra deste estudo foram adotados os seguintes critérios de inclusão:

- ✓ Ter 60 anos ou mais;
- ✓ Estar na pós-menopausa;
- ✓ Ter nacionalidade brasileira;
- ✓ Ser capaz de caminhar sem assistência de outra pessoa;
- ✓ Não apresentar problemas significativos de saúde que possa influenciar no resultado da pesquisa;

- ✓ Não utilizar algum tipo de pino e placas metálicas, marcapasso ou prótese unilateral ou bilateral de quadril;
- ✓ Ter pressão arterial controlada;
- ✓ Não apresentar histórico de doenças cardiovasculares sem o controle por medicamentos ou doenças osteomioarticulares de qualquer segmento dos membros inferiores que impedissem a realização dos testes;
- ✓ Apresentar massa corporal e estatura compatível com os limites superiores para realizar as medidas na balança e/ou DXA;
- ✓ Ter disponibilidade e querer participar da pesquisa.

A partir da população geral foram selecionadas 300 idosas para participar da pesquisa. Após a realização da triagem das voluntárias, duas foram excluídas por não terem nacionalidade brasileira; 13 não tinham 60 anos completos; quatro apresentavam pinos metálicos ou prótese; duas tinham massa corporal incompatível com o DXA; cinco não tinham disponibilidade de tempo para a realização do estudo. A fase de recrutamento e coleta dos dados das idosas foi de fevereiro à novembro de 2007. Após o final da coleta dos dados, sete idosas desistiram do estudo sem realizar nenhum teste; cinco voluntárias não responderam os questionários ou Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - ANEXO A); seis idosas foram excluídas por não terem feito a densitometria óssea; e quatro idosas não quiseram participar da coleta sanguínea. A amostra ao final ficou composta por 252 idosas com idade média de $66,94 \pm 5,59$ anos, as quais não apresentavam significativos problemas de saúde que pudesse ser agravado com o estudo. As características da amostra estão apresentadas na tabela 01.

4.4 PROCEDIMENTOS

4.4.1 Cuidados Éticos

As idosas participantes desta pesquisa foram avisadas com antecedência a respeito das datas da coleta dos dados e todas as idosas assinaram o TCLE orientando-as dos objetivos, testes realizados, procedimentos adotados, os possíveis desconfortos, assim como dos riscos e benefícios da pesquisa.

Os dados obtidos neste projeto não causaram impacto negativo nas idosas e nem a seus familiares, além disso, não trouxe prejuízo para a sociedade a qual está inserida. Por se tratar de uma pesquisa científica, os dados coletados são sigilosos, sendo permitido apenas aos pesquisadores deste e a idosa o acesso aos resultados obtidos. As idosas podiam deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, podendo assim retirar seus dados dos bancos de armazenamento. O projeto foi aprovado no comitê de ética da Universidade Católica de Brasília sob o número CEP/UCB 014/2007 (ANEXO B).

Os resultados encontrados nesse estudo serão utilizados como dados de pesquisa científica, e serão publicados e divulgados em revistas científicas, preservando a identidade dos participantes.

4.4.2 Para a Coleta de Dados

A coleta e a análise dos dados foram realizadas no Laboratório de Estudos em Educação Física e Saúde (LEEFS), Laboratório de Ciências Genômicas e

Biotecnologia, Laboratório de Avaliação Física e Treinamento (LAFIT) e no Laboratório de Imagem na Unidade de Densitometria Óssea.

Os procedimentos adotados foram:

Primeiramente todas as participantes responderam um questionário de caracterização da amostra informando sobre o histórico médico, tratamento de reposição hormonal, tabagismo, cor de pele referida, cidade de nascimento e demais informações necessárias para caracterização e seleção da amostra (ANEXO C). Um avaliador estava presente na aplicação do TCLE e dos questionários para esclarecer as dúvidas, porém este não pode interferir nas respostas das idosas.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS NÍVEIS DE ATIVIDADE FÍSICA

Foi utilizado a versão longa do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ, do inglês *International Physical Activity Questionnaire*), para determinar os níveis habituais de atividade física das voluntárias. O IPAQ foi desenvolvido como um instrumento para monitorar de forma padronizada a atividade e inatividade física em diversos países (CRAIG *et al.*, 2003). O modelo usado no presente estudo corresponde à tradução oficial em português da versão longa (disponível no site www.celafiscs.org.br). A avaliação leva em consideração a duração e frequência das atividades físicas realizadas em uma semana, considerando-se apenas sessões superiores a 10 minutos contínuos. Os resultados deste questionário possibilitam a divisão em cinco categorias: sedentário, irregularmente ativo B, irregularmente ativo A, ativo e muito ativo (ANEXO D).

4.6 ANTROPOMETRIA

A amostra foi caracterizada pela avaliação antropométrica, mensuração da massa corporal em uma balança da marca Filizola® com resolução de 50 gramas (g) e capacidade máxima de 150 quilogramas (kg) e a mensuração da estatura (m) em um estadiômetro acoplado a balança com resolução de 1mm. Posteriormente foi calculado pela fórmula massa corporal pela estatura² (kg/m²) o Índice de Massa Corporal (IMC).

4.7 MASSA MUSCULAR

A massa muscular foi mensurada utilizando o equipamento da marca Lunar, modelo DPX-IQ (Lunar Corporation, Madison, WI, USA) por meio da absorptometria por raios-x de dupla energia (DXA) no Laboratório de Imagem na Unidade de Densitometria Óssea da UCB – Figura 6. De acordo com recomendações do fabricante, o instrumento foi calibrado e testado antes do início dos testes. Através da atenuação de um feixe de energia penetrantes (prótons), fazendo a varredura da área de interesse, este método determina a massa gorda, massa magra e o conteúdo mineral ósseo de todo o corpo (LINDLE *et al.*, 1997), além dos valores de massa livre de gordura dos membros (apêndices) (LYNCH *et al.*, 1999). De acordo com Hansen *et al.*, (1999), o DXA é considerado válido para avaliar a composição corporal de mulheres idosas, podendo ser aplicado para mensurar a Massa Livre de

Gordura (MLG) das idosas, devido ao fato da MLG mensurada no DXA correlacionar-se fortemente com a massa muscular.

Durante a realização do exame, aproximadamente 25 minutos, as idosas permaneceram em decúbito dorsal sobre a mesa do equipamento, em seguida foram cuidadosamente posicionadas de forma que permaneceram totalmente centralizadas em relação às laterais da mesa. Além disso, foi utilizado um velcro para garantir que as voluntárias permanecessem com os membros inferiores estendidos e separados um do outro. Com relação aos membros superiores, as idosas foram orientadas a manter os membros superiores estendidos ao longo do corpo com os antebraços em pronação. O DXA determina a massa dos tecidos de todo o corpo.



FIGURA 6: DXA modelo Lunar DPX-IQ (*Lunar Corporation, Madison, WI, USA*).

O percentual de gordura obtido através do DXA foi utilizado para melhor caracterizar a amostra. Dessa forma, as variáveis seguintes foram utilizadas nas análises posteriores:

- ✓ *Massa Livre de Gordura Total (MLGT):* Tecido não ósseo livre de gordura de corpo inteiro expresso em Kg;

- ✓ *Massa Livre de Gordura Total Relativa (MLGTR)*: Tecido não ósseo livre de gordura de corpo inteiro dividido pela estatura ao quadrado, expresso em Kg/m². Trata-se de uma fórmula análoga ao IMC, que elimina diferenças na MLGT decorrentes de diferenças de estatura;
- ✓ *Massa Livre de Gordura Apendicular (MLGA)*: Tecido não ósseo livre de gordura apendicular. Refere-se ao somatório da massa livre de gordura dos membros inferiores e dos membros superiores expresso em Kg;
- ✓ *Massa Livre de Gordura Apendicular Relativa (MLGAR)*: Tecido não ósseo livre de gordura apendicular dividido pela estatura ao quadrado, expresso em Kg/m². Trata-se de uma fórmula análoga ao IMC, que elimina diferenças na MLGA decorrentes de diferenças de estatura.

4.8 FORÇA

A avaliação do Pico de Torque (Newtons-metros - Nm) foi realizada pelo maior valor de torque em cada série do teste no dinamômetro isocinético Biodex System III[®] (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY) – Figura 7. Primeiramente foi mensurada a Pressão Arterial (PA) das idosas antes do início dos testes. As idosas que apresentaram a PA alterada foram remarcadas para realizar o teste posteriormente.



FIGURA 7: Biodex System III[®] (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY).

As voluntárias realizaram um aquecimento em bicicleta ergométrica Lode[®] modelo Excalibur em uma potência de aproximadamente 15-30w durante 5 minutos. O Dinamômetro foi calibrado conforme especificações do fabricante e todos os testes foram realizados pelo mesmo avaliador. Após o aquecimento, as idosas foram posicionadas na cadeira ajustável do dinamômetro isocinético, e foi verificado qual era a perna dominante da voluntária, a qual foi escolhida para realizar o teste. A cadeira foi ajustada para que a fossa poplíteia do joelho estivesse apoiada na parte inferior do assento da cadeira, e para que o epicôndilo lateral do fêmur estivesse alinhado com o eixo mecânico de rotação do dinamômetro. Em seguida, foram colocados os cintos de estabilização da região torácica, pélvica e femoral da perna dominante para minimizar qualquer movimento que pudesse interferir no resultado do teste. Também foi observada a estabilização da coxa em sua porção distal com o objetivo de minimizar o movimento femoral. O braço da alavanca foi ajustado e fixado imediatamente acima do maléolo medial da perna dominante. Uma vez que a idosa estava corretamente posicionada foi ajustado a 0° a posição em que o

epicôndilo lateral do fêmur está alinhado com o eixo mecânico do dinamômetro e a perna fazendo 90° com o assento da cadeira. Posteriormente foram estabelecidos os ângulos que determinavam a amplitude do movimento da voluntária. Em seguida, a perna foi colocada a 40° para medir o peso do membro avaliado a fim de corrigir a ação da gravidade. A voluntária foi orientada a segurar com os braços cruzados no cinto de estabilização da região torácica, uma vez que não foi adotada a pegada na mesa pelo fato de algumas idosas não conseguirem segurar firmemente nesta posição.

Após os ajustes adequados para a realização do teste foi realizada a familiarização do movimento no dinamômetro isocinético composta por 3 repetições exercendo a força mínima necessária para realizar o movimento da amplitude estabelecida. O grupo muscular avaliado foi o extensor da articulação do joelho do membro dominante. O pico de torque foi mensurado a uma velocidade angular de 60°/s com três séries de quatro repetições e intervalo de 30 segundos entre cada série (Bottaro *et al.*, 2005). O protocolo utilizado neste estudo segue as recomendações de TERRERI *et al.*, (2001) os quais afirmam que são necessários de três a cinco repetições para se avaliar o pico de torque, em velocidades angulares abaixo de 180°/s e de BROWN e WEIR (2001) que se baseiam em um estado de pré-ativação neural das unidades motoras que afeta as variáveis da força muscular, e que deixam aptos os músculos para produzirem muita força ou torque, a partir da segunda repetição por tanto afirmam não ser necessário ultrapassar as cinco repetições em uma série de contrações musculares. Foram oferecidos estímulos verbais (dizendo em voz alta “força, força, força...”) e visuais (gráfico representando a força exercida da voluntária) durante as mensurações.

4.9 ANÁLISE DO DNA

4.9.1 Coleta Sanguínea

As participantes foram convidadas a comparecer ao LEEFS, localizado no Campus I da UCB onde foi realizada a coleta sanguínea. A amostra sanguínea de todas as participantes foi coletada através da veia antecubital, conforme figura abaixo:



FIGURA 8: Coleta de sangue através da veia antecubital.

Este procedimento foi realizado por uma enfermeira devidamente treinada. O volume de sangue extraído, de 3 a 5 ml, foi colhido em tubos vacutainer estéreis contendo anticoagulante EDTA. O material biológico foi armazenado na geladeira local até a coleta sanguínea de todas as voluntárias. Após a coleta, as amostras foram levadas ao Laboratório de Ciências Genômicas e Biotecnologia, localizado no Campus II da Universidade Católica de Brasília, onde todo o procedimento foi realizado desde a extração do DNA até a obtenção dos genótipos.

4.9.2 Extração do DNA

O processo de extração do DNA foi realizado pelos proponentes da pesquisa. O DNA genômico de alto peso molecular extraído dos leucócitos periféricos foi realizado utilizando-se o método “Salting Out” do protocolo modificado de Miller *et al.*, (1988). Os procedimentos de extração envolveram basicamente quatro passos:

a) Após a homogeneização do sangue, foi adicionado um volume inicial de 300 µl de sangue em um microtubo de 1,5 ml. Adicionou-se também 1000 µl de água destilada e utilizou-se o vórtex por 15 segundos para misturar a solução, posteriormente centrifugou a 5000 rpm por 15 minutos e descartou o sobrenadante com cuidado para não perder o pellet. Repetiu-se esta etapa por duas vezes. Adicionou 1000 µl de água destilada ao pellet e utilizou-se o vórtex por 15 segundos para misturar a solução, em seguida centrifugou a 5000 rpm por 15 minutos e descartou o sobrenadante.

b) A solução usada nesta etapa do procedimento foi denominada Tampão A, composta por sacarose (0,32 M), Tris-HCl (10 mM, pH 7,6), MgCl₂ (5 mM) e o detergente não iônico Triton X 100 (1%). Ressuspendeu-se o pellet em 700 µl de Tampão A, centrifugou o material a 3000 rpm por 15 minutos para condensação do pellet, em seguida foi descartado o sobrenadante. Esta etapa foi realizada duas vezes. Nesta fase ocorreu a quebra das células com remoção das membranas lipídicas por meio da adição de um tampão com detergente.

c) A solução utilizada nesta etapa foi o Tampão B (25 mM de EDTA com pH 8,0 e 75 mM de NaCl), sendo adicionado SDS a 10% (do inglês, sodium dodecyl sulfato) e proteinase K (10 mg/ml). Em seguida, o pellet foi suspenso a 500 µl de Tampão B, adicionou-se também 50 µl de SDS a 10% e 5 µl de Proteinase K. Os tubos foram

incubados a 55°C por 60 minutos para ativação das enzimas. Após a incubação foi adicionado 200 µl de NaCl saturado (6 M) e agitou por 15 segundos, seguido de uma nova centrifugação da mistura a 3000 rpm por 15 minutos com a finalidade de precipitar impurezas no fundo dos tubos. Esta etapa foi realizada para que ocorresse a remoção das proteínas celulares e histonas ligadas ao DNA por meio da adição de uma protease e precipitação com sódio.

d) Transferiu-se o sobrenadante obtido no item anterior para outro tubo de 1,5 µl e foi adicionado etanol absoluto (100%), na proporção de duas vezes o volume contido no tubo. Misturou-se por inversões cuidadosas, sendo nesse momento possível a visualização da precipitação do DNA. Foi realizada outra centrifugação a 5000 rpm durante 5 minutos com a finalidade de aderir o DNA no fundo do microtubo, descartando-se em seguida o etanol com cuidado para não perder o pellet. Após a evaporação completa do etanol, foram adicionados 100 µl de TE para conservação do DNA e incubado a 37°C durante 1 hora. Nesta última etapa ocorreu a precipitação do DNA em álcool.

4.9.3 Quantificação do DNA

A concentração do DNA extraído foi estimada por meio de gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio. Em cada poço do gel foi aplicado um volume de 8 µl, sendo 4 µl de solução tampão de carregamento (azul de bromofenol) e 4 µl do DNA extraído e conservado em TE. Foi utilizado como padrão para quantificação o lambda DNA em concentrações de 20, 50, 100 e 200ng/µl. Após aproximadamente 15 minutos de eletroforese a 80V, o gel foi fotografado em luz ultravioleta (Figura 9). A quantificação do DNA foi realizada por meio da comparação entre a intensidade

das bandas visualizadas nas amostras extraídas, com as observada nos padrões de lambda DNA.

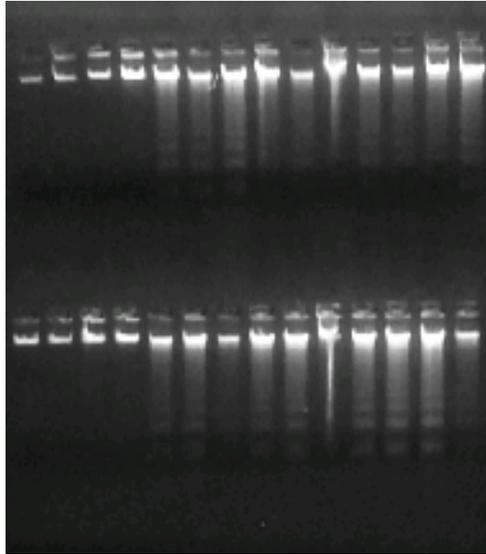


FIGURA 9: Quantificação do DNA.

Após a quantificação, todas as amostras de DNA foram diluídas em água destilada para que ficassem numa concentração final de 5 ng/ μ l.

4.10 POLIMORFISMO ESTUDADO NO GENE IGF-2

O polimorfismo no gene IGF-2 estudado nesta pesquisa foi o *Apal*, depositado no banco de dados dbSNP no NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) com a respectiva denominação rs680.

Foi utilizada a letra 'G' para identificar o alelo com a presença de guanina, e 'A' para identificar o alelo com a presença de Adenina (A). Posteriormente a

identificação do alelo presente, cada uma das amostras foi classificada em um dos três possíveis grupos: AA, GA e GG.

4.11 AMPLIFICAÇÃO DO DNA

O método amplificação do DNA foi feito pela Reação em Cadeia da Polimerase - PCR (do inglês POLIMERASE CHAIN REACTION) em um termociclador da marca GeneAmp® PCR System 9700, (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Veja figura abaixo:



FIGURA 10: Termociclador da marca GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

Esta técnica faz com que um fragmento específico de fita simples da molécula de DNA, seja amplificado milhares de vezes em poucas horas. Ela é baseada na termoestabilidade da enzima Taq Polimerase, extraída da bactéria *Thermus aquaticus*, com capacidade de exercer sua função em temperaturas elevadas que promovem normalmente a desnaturação do DNA. O $MgCl_2$ favorece o estímulo na

Taq polimerase e o dNTP são monômeros para a biossíntese do DNA. A reação da PCR foi realizada em um volume final de 12,5 µl, sendo: MgCl₂ 2,5µM (0,25µl), dNTP 250µM (1,25µl), Tampão 1x (1,25µl), BSA 0,32µM (1,6µl), Primer F - 5'-GTCCCTGAACCAGCAAAGAG-3' 0,5µM (0,625µl) Primer R - 5'-TGATGGAAAAGGGAGTGAGG-3' 0,5µM (0,625µl), enzima Taq DNA Polimerase 0,5U (0,1µl), água milli-Q (3,8µl) 5ng de DNA (3µl). Os primers utilizados nesta reação foram desenhados pelos autores desse projeto. Os fragmentos amplificados possuíam 156 pares de bases (bp).

Este procedimento consiste em várias interações composta pelas seguintes etapas: a primeira fase é a de desnaturação inicial realizada com a temperatura de 94°C e duração de 5 minutos. Durante esta fase, a cadeia dupla do DNA é separada em duas cadeias simples. Posteriormente temos 35 ciclos sendo composto por 45 segundos à 94°C (desnaturação), 1 minuto a 63°C (anelamento) e 1 minuto a 72°C (extensão). Em seguida, a segunda fase de extensão, é realizada com a temperatura de 72°C por 10 minutos e 4°C até o momento em que o produto fosse retirado. Após múltiplas interações, o aumento da quantidade de DNA é previsto por uma fórmula exponencial 2^x.

Os produtos amplificados da PCR (4 µl) foram adicionados a 3µl de tampão de carregamento em 2% de gel agarose corado com brometo de etídeo para que fosse visualizado na luz ultravioleta conforme figura abaixo.

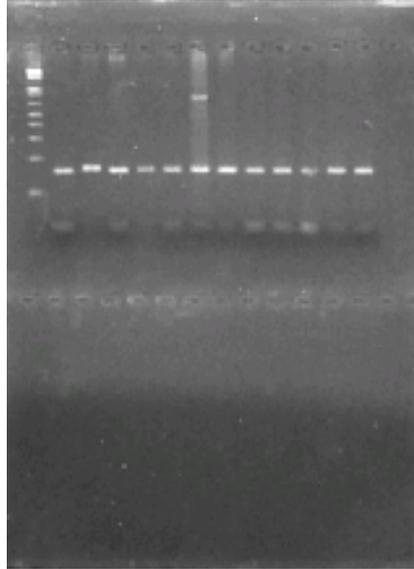


FIGURA 11: Fragmentos de DNA separados por eletroforese em gel de agarose.

4.12 GENOTIPAGEM DO IGF-2

A genotipagem do polimorfismo foi realizada com a enzima de restrição *Apal* utilizando a PCR-RFLP (Polimorfismos de tamanho em fragmentos de restrição). Para a realização deste procedimento foi utilizada 7 μ l a 9 μ l de produto PCR, 1,5 buffer, 0,75 de enzima de restrição *Apal*, e 5,75 a 3,75 de água destilada. Esta reação era incubada em *overnight* a 37°C e posteriormente foram adicionados 4 μ l de DNA digerido pela enzima de restrição a 3 μ l de tampão de carregamento em gel de agarose (4%) corado com brometo de etídeo para que fosse visualizado na luz ultravioleta. Veja figura abaixo:

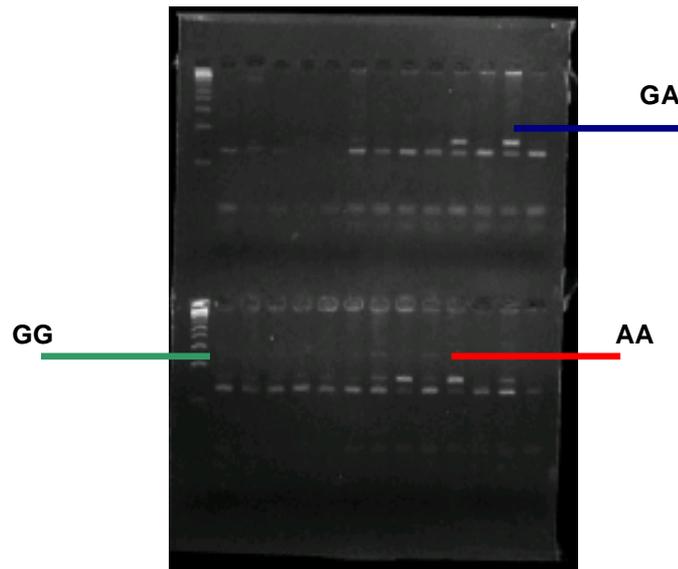


FIGURA 12: Fragmentos do polimorfismo do gene IGF-2 com a enzima de restrição *ApaI* separados por eletroforese em gel de agarose (4%).

4.13 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Com relação à análise estatística foi feita uma estatística descritiva dos dados para a caracterização da amostra, utilizando a média e o desvio-padrão. Além disso, realizou-se uma análise exploratória com o teste Kolmogorov-Smirnov para verificar se os dados seguem uma distribuição normal. O teste chi-quadrado foi utilizado para verificar se a frequência genotípica das idosas encontrava-se de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A análise de variância one way multifatorial ANOVA foi utilizada para comparar se houve diferença entre os genótipos do gene IGF-2 e as variáveis dependentes: idade, massa corporal, estatura, IMC e percentual de gordura. Nesta análise, foram utilizado como fator fixo os genótipos e como dependentes as variáveis analisadas.

Além disso, foi utilizada uma regressão múltipla (método stepwise) para verificar se as variáveis dependentes (fenótipos musculares e pico de torque) e as covariáveis (idade, massa corporal, estatura, IMC, percentual de gordura, nível de atividade física, tabagismo, reposição hormonal e cor de pele referida) se associavam. Todas as covariáveis que não influenciavam a variável dependente ($p > 0,10$) foram removidas das posteriores análises. As covariáveis analisadas em cada fenótipo foram:

- ✓ PT (N/m): idade, massa corporal, estatura, percentual de gordura e IMC;
- ✓ MLGA (kg): massa corporal, estatura, percentual de gordura, IMC, cor de pele referida;
- ✓ MLGAR (kg/m²): percentual de gordura e IMC;
- ✓ MLGT (KG): massa corporal, estatura, percentual de gordura, IMC e cor de pele referida;
- ✓ MLGTR (KG/M²): idade, massa corporal, estatura, percentual de gordura e IMC.

Em seguida foi realizada uma análise de covariância (ANCOVA) para verificar as diferenças entre os genótipos (GG, GA, AA) e os fenótipos força (pico de torque) e massa muscular (MLGA, MLGAR, MLGT, MLGTR) com as respectivas covariáveis incluídas.

A significância estatística adotada foi $p < 0,05$. O teste de Bonferroni foi adotado para corrigir as comparações múltiplas. Todas as análises foram realizadas com a utilização do programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 15.0.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A tabela 1 apresenta de forma descritiva as características antropométricas das amostras estudadas considerando a média e desvio padrão das variáveis analisadas. O teste de Kolmogorov-Smirnov revelou que os dados das variáveis utilizadas nesta amostra apresentam distribuição normal.

TABELA 1: Médias e desvios padrão das características da amostra.

Variáveis	Média ± DP	Mínimo	Máximo	Skewness
N	252	-	-	-
Idade (anos)	66,94 ± 5,59	57	87	0,95
Massa Corporal (kg)	66,39 ± 13,24	34,3	159,9	1,92
Estatura (m)	1,53 ± 0,07	1,33	1,71	0,16
IMC (kg/m ²)	28,23 ± 4,85	17,25	54,68	1,24
Percentual de gordura (%)	39,50 ± 5,94	20,5	54,1	-0,41
MLGA (kg)	14,56 ± 2,00	9,19	19,95	0,78
MLGAR (kg/m ²)	6,09 ± 0,59	4,73	7,51	0,09
MLGT (kg)	37,61 ± 4,11	28,17	47,23	0,14
MLGTR (kg/m ²)	15,98 ± 1,36	12,23	19,62	0,08
PT (N/m)	94,98 ± 22,40	42,9	153,97	0,01

n= número de voluntárias da amostra; DP= desvio-padrão; IMC= índice de massa corporal; MLGA= massa livre de gordura apendicular; MLGAR= massa livre de gordura apendicular relativa; MLGT= massa livre de gordura total; MLGTR= massa livre de gordura total relativa; PT= pico de torque normalizado.

A tabela 2 apresenta os valores absolutos e relativos das características referentes a tabagismo, obesidade, cor de pele autodefinida, nível de atividade física

e autodefinição da perna dominante. A classificação da obesidade foi baseada pelos valores de IMC superior a 30 kg/m² (GEUSENS *et al.*, 1997).

TABELA 2: Características de tabagismo, obesidade, cor de pele autodefinida, nível de atividade física e autodefinição da perna dominante.

Características	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
n	252	100
Fumante		
Sim	16	6,35
Não	236	93,65
Obesidade		
Sim (IMC > 30 kg/m ²)	80	31,75
Não (IMC ≤ 30 kg/m ²)	172	68,25
Cor da Pele		
Branca	131	51,98
Amarela	11	4,37
Parda	54	21,43
Negra	51	20,24
Vermelha	5	1,98
Nível de Atividade Física (IPAQ)		
Muito Ativas	6	2,38
Ativas	188	74,6
Insuficientemente ativas A	36	14,29
Insuficientemente ativas B	17	6,75
Sedentárias	5	1,98
Perna Dominante		
D	245	97,22
E	7	2,78

n=número de voluntárias da amostra; IMC= índice de massa corporal; IPAQ= questionário internacional de atividade física (do inglês international physical activity questionnaire); D= perna direita; E= perna esquerda.

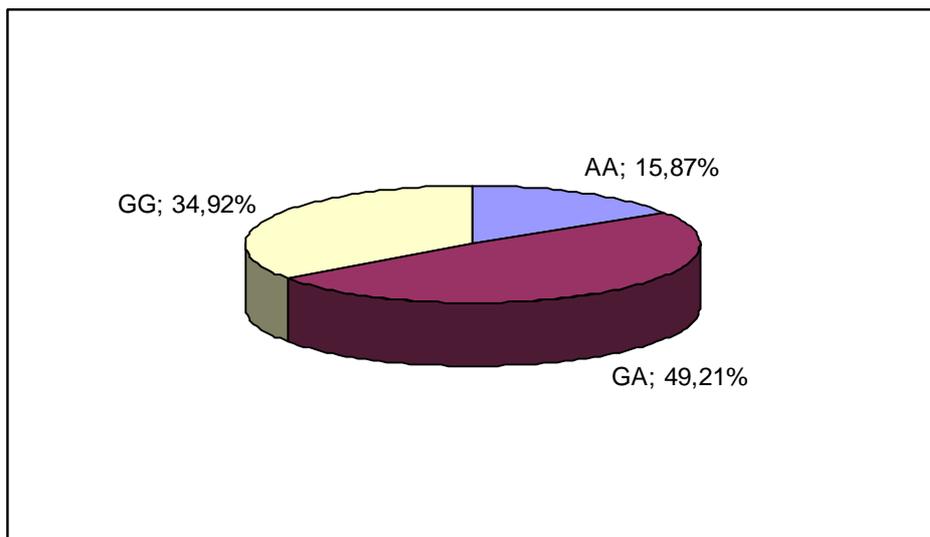
A tabela 3 mostra a distribuição genotípica do SNP rs680 analisado na amostra deste estudo.

TABELA 3: Freqüência genotípica do SNP rs680 analisado no gene IGF-2.

SNP	Freqüência absoluta e relativa (%)
rs680	
AA	40 (15,87%)
GA	124 (49,21%)
GG	88 (34,92%)

5.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE OS GENÓTIPOS DO SNP RS680 NO IGF-2 E OS FENÓTIPOS.

As voluntárias analisadas foram seqüenciadas com relação aos genótipos do polimorfismo *Apal* do gene *IGF-2*. Observou-se que na distribuição genotípica 88 (34,92%) idosas apresentaram o genótipo GG, 124 (49,21%) o genótipo GA e 40 (15,87%) apresentaram o genótipo AA (Figura 13). A freqüência do alelo A foi de 40,47% e do alelo G foi de 59,53%. O teste chi-quadrado revelou que a distribuição destes genótipos estava de acordo com o equilíbrio de *Hardy-Weinberg*.

FIGURA 13: Distribuição dos genótipos do polimorfismo *Apal* do gene *IGF-2*.

A tabela 4 mostra as características das participantes deste estudo considerando o genótipo analisado. A análise one-way ANOVA mostrou que não houve diferença significativa entre as variáveis idade, massa corporal, estatura, IMC e o percentual de gordura.

TABELA 4: Características físicas (médias e desvios padrão) da amostra em relação aos genótipos do polimorfismo *Apal* do gene IGF-2.

Variáveis	Genótipos			P
	GG	GA	AA	
N	88	124	40	
Idade (anos)	67,49 ± 5,40	66,66 ± 5,56	66,58 ± 6,13	0,52
Massa Corporal (kg)	65,73 ± 11,87	66,87 ± 12,21	66,35 ± 18,47	0,82
Estatura (m)	1,53 ± 0,07	1,54 ± 0,07	1,53 ± 0,06	0,54
IMC (kg/m ²)	28,16 ± 4,46	28,34 ± 4,80	28,00 ± 5,88	0,92
Percentual de gordura (%)	39,57 ± 6,36	39,74 ± 5,76	38,61 ± 5,59	0,57

n= número de voluntárias da amostra; IMC= índice de massa corporal.

Foi realizada uma análise de covariância (ANCOVA) para verificar se as médias dos fenótipos massa livre de gordura e pico de torque, após controlar as covariáveis, diferenciavam entre os genótipos do SNP rs680. No entanto, os resultados revelaram que não há diferenças estatisticamente significativa entre os grupos genotípicos (GG, GA, AA) com os fenótipos analisados. A tabela 5 apresenta as médias dos fenótipos massa livre de gordura e pico de torque antes e depois do controle das covariáveis.

TABELA 5: Fenótipos ajustados (média e erro padrão) e não ajustados (média e desvio-padrão) para os genótipos do SNP rs680 do IGF-2 utilizando as covariáveis controladas.

Fenótipos	Genótipos			p
	GG	GA	AA	
N	88	124	40	
PT (N/m)				
Ajustada	93,71 ± 2,02	96,35 ± 1,70	93,53 ± 3,00	0,53
Não ajustada	92,33 ± 23,70	97,19 ± 21,43	93,97 ± 22,27	0,59
MLGA (kg)				
Ajustada	14,78 ± 0,16	14,49 ± 0,13	14,12 ± 0,23	0,2
Não ajustada	14,64 ± 2,08	14,58 ± 1,97	14,16 ± 1,99	0,26
MLGAR (kg/m ²)				
Ajustada	6,11 ± 0,06	6,11 ± 0,05	6,02 ± 0,08	0,58
Não ajustada	6,11 ± 0,62	6,11 ± 0,57	6,03 ± 0,56	0,57
MLGT (kg)				
Ajustada	37,59 ± 0,27	37,72 ± 0,23	37,29 ± 0,41	0,66
Não ajustada	37,28 ± 4,25	37,93 ± 4,03	37,30 ± 4,05	0,36
MLGTR (kg/m ²)				
Ajustada	16,02 ± 0,11	16,00 ± 0,09	15,81 ± 0,17	0,54
Não ajustada	16,01 ± 1,42	16,02 ± 1,34	15,77 ± 1,33	0,44

n= número de voluntárias da amostra; PT= pico de torque; MLGA= massa livre de gordura apendicular; MLGAR= massa livre de gordura apendicular relativa; MLGT= massa livre de gordura total; MLGTR= massa livre de gordura total relativa.

6 DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi verificar a associação do polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 com os fenótipos força e massa muscular levando em conta os padrões de atividade física em idosas brasileiras. Foram analisadas 252 idosas.

Após a sistematização dos dados foi observado que 6,35% da amostra relataram ser fumantes e 31,75% das voluntárias participantes do estudo foram consideradas obesas, pois apresentaram valores de IMC superiores a 30,0 kg/m². Quando analisado o %G, estudado em diferentes países, observa-se que o presente estudo assemelha-se a estudos realizados em outros países conforme pode ser observado no Quadro 1. Sabe-se que com o envelhecimento as pessoas tendem a adquirir maior massa gorda (BASU, BASU, NAIR, 2002), o que pode ocasionar grandes riscos para a saúde, como por exemplo, o aumento da pressão arterial. Para minimizar as alterações decorrentes do envelhecimento sugere-se adotar um estilo de vida com hábitos alimentares saudáveis e prática de atividade física. De acordo com o IPAQ 76,98% da amostra deste estudo foram classificadas como “Muito Ativas” e “Ativas” mas não foram avaliados os hábitos alimentares das idosas.

QUADRO 1: Estudos realizados em diferentes países referente ao percentual de gordura.

Autor / Data	País	Amostra (n)	%G
Gallagher <i>et al.</i> , (1997)	Amsterdam	80 Afro-americanas 68 Caucasianas	36,0±8,0% 33,3± 9,3%
Baumgartner <i>et al.</i> , (1998)	Novo México	382	38,7±5,8%
Kyle <i>et al.</i> , (2001)	Suíça	100	34,6%
Newman <i>et al.</i> , (2003)	Pensilvânia	805 Brancas 635 Negras	39,0±5,6% 40,1±6,0%
Lau <i>et al.</i> , (2005)	China	265	34,9%±8,5%
Presente estudo	Brasil	252	39,50 ± 5,94%

Com relação a análise da cor de pele auto relatada pelas voluntárias deste estudo observou-se que 51,98% relataram ter a cor de pele branca, 4,37% amarela, 21,43% parda, 20,24% negra e 1,98% vermelha. Mas vale ressaltar que está análise não pode ser utilizada com precisão para predizer a ancestralidade genômica. Os resultados encontrados neste estudo podem ser explicados em parte pela

miscigenação da população brasileira, por isso, estudos posteriores devem realizar a análise de ancestralidade para controlar os efeitos da miscigenação da população brasileira neste gene.

As participantes desse estudo tiveram a massa livre de gordura mensurada pela densitometria óssea, método considerado válido para avaliar a composição corporal de mulheres idosas (LINDLE *et al.*, 1997; ROTH *et al.*, 2004). Foram avaliadas a massa livre de gordura apendicular, massa livre de gordura apendicular relativa, massa livre de gordura total e a massa livre de gordura total relativa.

Com relação aos resultados apresentados a seguir, nota-se que a MLG analisada por DXA neste estudo não apresentou relação constante com os demais estudos que também utilizaram o DXA para mensurar a MLG. A MLGT desse estudo foi semelhante ao estudo de Gallagher *et al.*, (2000), foi superior ao resultado das idosas brancas do estudo de Newman e colaboradores (2003) e das idosas dos estudos realizados por Hansen *et al.*, (1999) e Lau *et al.*, (2005) e inferior a MLGT das idosas dos demais estudos descritos no quadro 2. No entanto, quando corrigimos a MLGT pela estatura, observa-se que os resultados encontrados com as idosas brasileiras aproximam-se dos demais estudos. No entanto, devido a grande variedade de fatores que podem explicar as diferenças encontradas entre os resultados da amostra estudada e os resultados dos demais estudos torna-se difícil estabelecer quais fatores, como por exemplo, as diferenças étnicas, diferentes hábitos nutricionais e ambientais (LIMA, 2006a), os níveis de atividades físicas, reposição e fatores hormonais (SZULC *et al.*, 2004) e o tabagismo, melhor explicam as diferenças dos fenótipos musculares.

QUADRO 2: Estudos prévios que avaliaram a MLG em mulheres.

Autor / Data	Amostra (n)	Idade (anos)	Instrumento	MLGA (kg)	MLGAR (kg/m²)	MLGT (kg)	MLGTR (kg/m²)
Gallagher <i>et al.</i> , (1997)	80 Afro-americanas	51,8 ± 15,7	DXA	20,5 ± 2,8	7,82*	44,9 ± 5,5	17,13*
	68 Caucasianas	46,0 ± 18,8		18,6 ± 2,6	7,01*	42,7 ± 5,2	16,11*
Baumgartner <i>et a.</i> , (1998)	382	73,7 ± 6,1	DXA	14,5 ± 2,2	5,9 ± 0,7	-	-
Hansen <i>et al.</i> , (1999)	50	63 ± 7	DXA	-	-	37,40 ± 5,9	14,27*
Gallagher <i>et al.</i> , (2000)	54	70,2 ± 7,8	DXA	16,4 ± 2,8	6,67*	39,3 ± 4,5	15,97*
Kyle <i>et al.</i> , (2001)	100	Entre 60 e 94	DXA	16,5 ± 2,2	6.40 ± 0.7	41.4 ± 4.6	16,42*
Kenny <i>et al.</i> , (2003)	189	67,5 ± 4,8	DXA	15,2 ± 1,9	5,9 ± 0,59	-	-
Newman <i>et al.</i> , (2003)	Branças	73,6 ± 2,8	DXA	15,5 ± 2,4	6,1 ± 0,8	38,1 ± 5,1	15,0 ± 1,8
	Negras	73,4 ± 3,0		18,5 ± 3,3	7,3 ± 1,1	42,5 ± 6,2	16,7 ± 2,1
Lau <i>et al.</i> , (2005)	265	76,9 ± 3,7	DXA	12,4 ± 1,7	5,7 ± 0,6	28,1 ± 3,5	13,01*
Presente estudo	252	66,94 ± 5,59	DXA	14,26 ± 2,00	6,09±0,59	39,50 ± 5,94	15,98 ± 1,36

* Dados não fornecido nos artigos, mas calculado pelas fórmulas:
 MLGAR (kg/m²): massa livre de gordura apendicular dividida pela estatura²;
 MLGTR (kg/m²): massa livre de gordura total dividida pela estatura².

Com o aumento da população idosa as alterações fisiológicas associadas à idade tem sido motivo de preocupação entre os pesquisadores. Dentre as alterações destaca-se a sarcopenia que é caracterizada pela perda involuntária de massa muscular esquelética e força (BROSS, JAVANBAKHT, BHASIN, 1999; SKELTON, BEYER, 2003). De acordo com o Baumgartner *et al.*, (1998) o ponto de corte para a sarcopenia em mulheres é inferior a 5,45 kg/m² de massa livre de gordura apendicular relativa, mas sabe-se que ainda não há um valor específico para o ponto de corte da prevalência da sarcopenia na população brasileira. Se levarmos em conta este corte para o presente estudo 15,48% das idosas apresentariam sarcopenia. Este valor difere dos estudos que encontraram prevalência de sarcopenia em 23,8% (Kenny *et al.*, 2003), 27,0% (Melton *et al.*, 2000) e 33,78% (Baumgartner *et al.*, 1998). De acordo com os resultados obtidos na avaliação da composição corporal das voluntárias observou-se que os valores do IMC, percentual de gordura e da MLG foram similares aos estudos publicados, porém há a necessidade de se definir um valor específico para o ponto de corte da sarcopenia nesta população miscigenada, pois, a perda de massa e força muscular pode levar a dependência de outras pessoas para realizarem as AVDs ou até mesmo a mortalidade.

O quadro 3 mostra estudos prévios que avaliaram a força isocinética por meio do dinamômetro isocinético em diferentes populações. A análise estatística do estudo (ANCOVA) demonstrou que os resultados obtidos na força isocinética, após o controle das covariáveis, não diferenciavam estatisticamente entre os genótipos do SNP rs680. Com relação aos resultados apresentados no quadro abaixo, nota-se que a força isocinética analisada pelo dinamômetro isocinético no nosso estudo não tem uma relação constante com as demais pesquisas que também utilizaram o

dinamômetro para mensurar a força muscular isocinética. A força muscular desse estudo foi semelhante ao estudo de Carvalho e seus colaboradores (2004) no pós-teste com relação às mulheres (60°/s) e aos homens (180°/s), foi superior aos resultados encontrados nos estudos de Aquino *et al.*, (2002), no momento pré-teste (60°/s e 180°/s) e pós-teste (180°/s) das mulheres e no pré-teste (180°/s) dos homens na pesquisa realizada por Carvalho *et al.*, (2004) e também foi superior aos resultados encontrados por Aquino *et al.*, (2006). O resultado encontrado foi inferior a força isocinética dos demais estudos descritos no quadro abaixo. Vale ressaltar que, possivelmente, a discordância do resultado encontrado no presente estudo em relação aos outros estudos, se deva aos procedimentos utilizados, ao número de repetição em cada série, ao número de séries em cada teste, a velocidade angular adotada, intervalo entre cada série e a amostra utilizada (nível de atividade física, hábitos alimentares entre outros).

Nas velocidades angulares mais baixas existe uma maior produção de força muscular (maior pico de torque), pois as fibras musculares do tipo II (glicolíticas) são recrutadas em maior número quando comparada as fibras do tipo I (THORSTENSSON *et al.*, 1976).

QUADRO 3: Estudo prévio que avaliaram a força isocinética por meio do dinamômetro isocinético.

Autor / Data	Amostra (n)	Idade (anos)	Protocolo	Velocidade	Força Isocinética Nm (extensão - perna dominante)
Aquino <i>et al.</i> , (2002)	26 ♀	77,85 ± 2,81	Exercerem força concêntrica tanto para flexão ou extensão. Aquecimento 5' caminhada. 4 rep. p/ cada teste e foram realizados bilateralmente, 1º no lado dominante.	60% <i>s</i>	76,92 ± 13,97
Carvalho <i>et al.</i> , (2004)	12 ♀	69,6 ± 2,9	Aquecimento em uma bicicleta ergométrica por 5', a 60 rpm. Familiarização com o dinamômetro através de teste submáximo, 10 rep. de extensão/flexão do joelho a 180% <i>s</i> e 5 rep. a 60% <i>s</i> . Exercer força máxima, 5 rep. a 180% <i>s</i> e 3 a 60% <i>s</i> . Intervalo de descanso entre os testes de 2'.	60% <i>s</i> (Pré)	90,9 ± 10,4
				60% <i>s</i> (Pós)	95,8 ± 12,3
				180% <i>s</i> (Pré)	59,2 ± 7,6
				180% <i>s</i> (Pós)	61,7 ± 7,9
	7 ♂	68,3 ± 5,2		60% <i>s</i> (Pré)	139,1 ± 33,4
				60% <i>s</i> (Pós)	144,9 ± 34,5
				180% <i>s</i> (Pré)	90,8 ± 25,6
				180% <i>s</i> (Pós)	93,1 ± 28,9
Aquino <i>et al.</i> , (2006)	20 ♀ experimental	71,35 ± 3,23	Os testes foram realizados bilateralmente, tanto em pacientes submetidos intervenção cirurgica no joelho intervalo de 12 a 36 meses (Experimental) e em voluntários (Controle).	60% <i>s</i>	74,65 ± 18,46*
	25 ♀ controle	71,36 ± 3,24		60% <i>s</i>	86,24 ± 14,54*
Cannon <i>et al.</i> , (2006)	14 ♀	21 - 30	Aquecimento e familiarização durante 5". Exercer força máxima durante o teste. Intervalo de descanso entre as séries de 30" e de 5' entre os testes. Estímulos verbais.	60% <i>s</i>	165 ± 20
	12 ♀	65 - 78		60% <i>s</i>	133 ± 16
Presente estudo	252 ♀	66,94 ± 5,59	Aquecimento - bicicleta ergométrica por 5', a 15-30w. Segurar com os braços cruzados no cinto de estabilização. Familiarização composta por 3 rep. força mínima. O teste - perna dominante sendo 3 séries de 4 rep. e intervalo de 30". Estímulos verbais e visuais.	60% <i>s</i>	94,98 ± 22,40

* Perna sem intervenção cirúrgica.

No presente estudo não foi observada interação entre o polimorfismo *Apal* e os níveis de atividade física na determinação do pico de torque e da massa livre de gordura.

O quadro abaixo apresenta a distribuição genotípica apresentada em estudo prévios com relação ao polimorfismo *Apal* do gene IGF-2.

QUADRO 4: Estudos prévios com a distribuição da frequência alélica do polimorfismo *Apal* do gene IGF-2.

Autor / Data	Amostra (n)	Frequência Genotípica		
		GG (%)	GA (%)	AA (%)
Sayer <i>et al.</i> , (2002)	296 ♀	56,76	37,84	5,41
Schrager <i>et al.</i> , (2004)	239 ♀	49,79	39,75	10,46
Gomes <i>et al.</i> , (2005)	294 (95 ♂ e 199 ♀)	48,3	43,9	7,8
Heude <i>et al.</i> , (2007)	4634 (2055 ♂ e 2579 ♀)	51,7	40,6	7,7
Presente estudo	252 ♀	34,92	49,21	15,87

A análise estatística ANCOVA demonstrou que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos resultados obtidos na associação entre os fenótipos pico de torque e massa livre de gordura com os genótipos do polimorfismo *Apal* do gene IGF-2, corroborando com a pesquisa de Devaney *et al.*, (2007) que também não encontraram associações significativas da força com os genótipos do IGF-2. No entanto, estudos têm demonstrados associações significativas entre os genótipos do IGF-2 com a massa corporal, a massa livre de gordura e a força em homens e mulheres como o estudo de Schrager *et al.*, (2004). Schrager e seus colaboradores (2004) realizaram um estudo em dois períodos (1960 – 1985; 1992 – 2002) no qual

avaliaram 485 indivíduos (246 homens e 239 mulheres) com idade entre 20 e 94 anos com relação a influência do gene IGF-2 na massa muscular livre de gordura total e na força muscular. Considerando apenas a amostra das 239 mulheres analisada, vale ressaltar que a MLGT só foi mensurada em 19, 84 e 103 mulheres AA, GA e GG respectivamente. O quadro 5 apresenta a comparação dos resultados encontrados por Schragger *et al.*, (2004) e os resultados observados no presente estudo com relação a MLGT e a força isocinética. No entanto encontraram que a força isocinética de braço nos homens AA era menor do que nos homens GG. Já as mulheres AA apresentaram uma menor quantidade de massa livre de gordura e de força quando comparadas as mulheres GG.

QUADRO 5: Comparações dos resultados encontrados no presente estudo e no estudo de Schragger e seus colaboradores.

Autor / Data	Amostra (n)	Idade (anos)	Fenótipos	Genótipos		
				AA (n=25)	GA (n=95)	GG (n=119)
Schragger <i>et al.</i> , (2004)	239 ♀	35	MLGT (kg)	38.8 ± 0.9	40.7 ± 0.4	40.7 ± 0.4
			PT (N/m)- 30% <i>s</i>	203.7 ± 8.5	204.3 ± 7.4	218.6 ± 7.4
			PT (N/m)- 180% <i>s</i>	143.3 ± 6.8	146.5 ± 5.8	159.3 ± 5.7
		65	MLGT (kg)	39.1 ± 1.3	41.3 ± 0.6	41.1 ± 0.6
			PT (N/m)- 30% <i>s</i>	170.3 ± 7.8	176.7 ± 4.2	184.8 ± 3.6
			PT (N/m)- 180% <i>s</i>	119.4 ± 6.0	130.3 ± 3.3	132.4 ± 2.8
Presente estudo	252 ♀	57 – 87	MLGT (kg)	AA (n=40) 37,29 ± 0,41	GA (n=124) 37,72 ± 0,23	GG (n=88) 37,59 ± 0,27
			PT (N/m)- 60% <i>s</i>	93,53 ± 3,00	96,35 ± 1,70	93,71 ± 2,02

No estudo de Gomes *et al.*, (2005) a comparação das médias da massa corporal ao nascimento apresentou diferenças estatisticamente significativas entre A/A e G/G, sendo os portadores do genótipo G/G em média 0,639kg mais pesados.

Quanto ao IMC atual, os resultados não foram significativos, mesmo separando em 2 grupos (IMC = 25-30 e IMC > 30).

Considerando esse estudo como sendo o pioneiro em relação a associação do polimorfismo *Apal* do IGF-2 em mulheres idosas com os fenótipos força e MLG e diante dos achados em estudos publicados na literatura sugere-se a necessidade de se realizar estudos de intervenção utilizando o polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 com os fenótipos força e massa muscular em mulheres idosas brasileiras e também nas demais populações para verificar se há ou não influência desse gene sobre a força e a massa muscular. Por outro lado, ainda é importante realizar estudos de associação para a confirmação dos achados observados nesse estudo, a fim de se evitar associações espúrias. De acordo com Sullivan (2007) os estudos de associações genéticas são importantes para a formação de banco de dados, porém deve ser analisados com cautela para evitar a possibilidade de encontrar associações espúrias. Brand e seus colaboradores (2008) relatam que os estudos de associações são importantes pois juntamente com os avanços da genética têm resultado em grandes mudanças na intervenção e prevenção de processos degenerativos e de muitas doenças.

7 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados demonstraram não haver associação significativa entre o polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 com os fenótipos força muscular isocinética e a massa livre de gordura em idosas brasileiras. Portanto, é possível que os resultados possam ter sido influenciados pelas diferenças étnicas da população brasileira e pelos protocolos utilizados nas pesquisas anteriormente realizadas.

8 SUGESTÕES

Sugere-se que sejam realizados novos estudos sobre a associação do gene IGF-2 e os fenótipos força e massa muscular na população brasileira focando a ancestralidade genômica a fim de verificar algum traço de ancestralidade que possa ter interferido nos resultados obtidos, o tamanho da amostra, estendendo o estudo para ambos os gêneros e outros parâmetros com relação à força como a resistência muscular, a fadiga e o trabalho entre outros, assim como também deve ser realizadas análises para verificar se outros polimorfismos do IGF-2 e/ou outros genes influenciam na ação do polimorfismo *Apal* do IGF-2 com relação aos fenótipos força e massa livre de gordura. Outra estratégia seria realizar estudos longitudinais acompanhando as alterações musculares decorrentes do envelhecimento e experimentais para verificar a resposta destes genótipos a um treinamento específico.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNEY M.; MCPEEK M. S.; OBER C. Broad and narrow heritabilities of quantitative traits in a founder population. *Am J Hum Genet.* 68(5): 1302-1307, 2001.

AQUINO, M. A.; GARCEZ-LEME, L. E. Isokinetic dynamometry in elderly women undergoing total knee arthroplasty: a comparative study. *Clinics.* 61(3): 215-222, 2006.

AQUINO, M. A.; LEME, L. E. G.; AMATUZZI, M. M.; GREVE, J. M. D.; TERRERI, A. S. A. P.; ANDRUSAITIS, F. R.; NARDELLI, J. C. C. Isokinetic assessment of knee flexor/extensor muscular strength in elderly women. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo.* 57(4): 131-134, 2002.

ARDEO, V.; BRAZ, A.; NERI, M.; QUADROS, S. *A inflamação da terceira idade.* Conjuntura econômica, 2004.

BAKER J.; LIU J-P.; ROBERTSON E. J.; EFSTRATIADIS A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell.* 75: 73–82, 1993.

BASSEY E. J.; FIATARONE M. A.; O'NEILL E.F.; KELLY M.; EVANS W. J.; LIPSITZ L. A. Leg extensor power and functional performance in very old men and women. *Clin Sci.* 82(3): 321-327, 1992.

BASU, R.; BASU, A.; NAIR, K. S. Muscle changes in aging. *The Journal of Nutrition, Health & Aging.* 6(5): 01-06, 2002.

BAUMGARTNER, R. N.; KOEHLER, K. M.; GALLAGHER, D.; ROMERO, L.; HEYMSFIELD, S. B.; ROSS, R. R.; GARRY, P. J.; LINDEMAN, R. D. Epidemiology of Sarcopenia among the elderly in New Mexico. *American Journal of Epidemiology.* 147(8): 755-763, 1998.

BERGLUND, M.; AKESSON, A.; BJELLERUP, P.; VAHTER, M. Metal-bone interactions. *Toxicology Letters*. 112-113: 219-225, 2000.

BOTTARO, M.; RUSSO, A.; OLIVEIRA R. J. The effects of rest interval on quadriceps torque during an isokinetic testing protocol in elderly. *Journal of Sports Science and Medicine*. 4: 285-290, 2005.

BRAND, A.; BRAND, H.; BÄUMEN, T. S. The impact of genetics and genomics on public health. *European Journal of Human Genetics*. 16: 5-13, 2008.

BROSS, R.; JAVANBAKHT, M.; BHASIN, S. Anabolic interventions for aging-associated sarcopenia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 84: 3420-3430, 1999.

BROWN, L. E., WEIR, J. P. ASEP Procedures recommendation I: Accurate assessment of muscular strength and power. *Journal of Exercise Physiology*. 4(3): 1-21, 2001.

BURCKHARDT, P.; MICHEL, C. H. The peak bone mass concept. *Clin Rheumatol*. 8 (suppl 2): 16-21, 1989.

CANNON, J.; KAY, D.; TARPENNING, K. M.; MARINO, F. E. Normalized lengthening peak torque is associated with temporal twitch characteristics in elderly women but not young women. *Acta Physiol*. 188: 53-62, 2006.

CARVALHO, J.; OLIVEIRA, J.; MAGALHÃES, J.; ASCENSÃO, A.; MOTA, J.; SOARES, J. M. C. Força muscular em idosos II — Efeito de um programa complementar de treino na força muscular de idosos de ambos os sexos *Revista Portuguesa de Ciências do Desporto*. 4(1): 58-65, 2004.

CONSTANCIA, M.; HEMBERGER, M.; HUGHES, J.; DEAN, W.; FERGUSON-SMITH, A.; FUNDELE, R.; STEWART, F.; KELSEY, G.; FOWDEN, A.; SIBLEY, C.; REIK, W. Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth. *Nature*. 417(6892): 945-948, 2002.

CRAIG, C. L.; MARSHALL, A. L.; SJOSTROM, M.; BAUMAN, A. E.; BOOTH, M. L.; AINSWORTH, B. E.; PRATT, M.; EKELUND, U.; YNGVE, A.; SALLIS, J. F.; OJA, P. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 35(8): 1381-1395, 2003.

DeCHIARA, T. M.; ROBERTSON, E. J.; EFSTRATIADIS, A. Parental *imprinting* of the mouse insulin-like growth factor II gene. *Cell*. 64: 849–859, 1991.

DEVANEY, J. M.; HOFFMAN, E. P.; GORDISH-DRESSMAN, H.; KEARNS, A.; ZAMBRASKI, E.; CLARKSON, P. M. IGF-II gene region polymorphisms related to exertional muscle damage. *J Appl Physiol*. 102: 1815-1823, 2007.

DOHERTY, T. J. Invited of Aging. *J Appl Physiol*. 95: 1717-1727, 2003.

DOHERTY T. J.; VANDERVOORT A. A.; BROWN W. F. Effects of ageing on the motor unit: a brief review. *Can J Appl Physiol*. 18: 331-358, 1993.

DUTTA, C. Significance of sarcopenia in the elderly. *The Journal of Nutrition*. 127(5): 992S-993S, 1997.

EVANS W. J. Effects of exercise on senescent muscle. *Clin Orthop Relat Res*. 403: 211S-220S, 2002.

EVANS, W. J.; Functional and metabolic consequences of sarcopenia. *The journal of nutrition*. 127(5): 998S-1003S, 1997.

EVANS, W.J. Reversing sarcopenia: how weight training can build strength and vitality. *Geriatrics*. 51(5): 46-47, 51-53; quiz 54, 1996.

FIATARONE, M. A.; MARKS, E. C.; RYAN, N. D.; MEREDITH, C. N.; LIPSITZ, L. A.; EVANS, W. J. High-intensity strength training in nonagenarians – effects on skeletal muscle. *JAMA*. 263: 3029-3034, 1990.

FLECK, S. J.; KRAEMER, W. J. *Fundamentos do treinamento de força muscular*. 2ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1999.

FLYNN, M. G.; FAHLMAN, M.; BRAUN, W. A.; LAMBERT, C. P.; BOUILLON, L. E.; BROLINSON, P. G.; ARMSTRONG, C. W. Effects of resistance training on selected indexes of immune function in elderly women. *J Appl Physiol*. 86: 1905-1913, 1999.

FOLLAND, J.; LEACH, B.; LITTLE, T.; HAWKER, K.; MYERSON, S.; MONTGOMERY, H.; JONES, D. Angiotensin-converting enzyme genotype affects the response of human skeletal muscle to functional overload. *Experimental Physiology*. 85(5): 575-579, 2000.

FOLSTAXAN. Disponível em: <<http://www.folstaxan.com/images/sarcopenia.gif>>. Acessado em 17/07/2008.

FORBES, G. B.; REINA, J. C. Adult lean body mass declines with age: some longitudinal observations. *Metabol*. 19: 653-663, 1970.

FREITAS, E. V.; GHORAYEB, N.; PEREIRA, J. B. M.; GHORAYEB, C. Atividade Física no Idoso. In: *Tratado de Geriatria e Gerontologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

FRONTERA, W. R.; HUGHES, V. A.; FIELDING, R. A.; FIATARONE, M. A.; EVANS, W. J.; ROUBENOFF, R. Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. *J Appl Physiol*. 88: 1321-1326, 2000.

FRONTERA, W. R.; HUGHES, V. A.; LUTZ, K. J.; EVANS, W. J.: A cross sectional study of muscle strength and mass in 45- to 78-yr-old men and women. *J Appl Phys*. 71: 644-650, 1991.

GALE, C. R.; MARTYN, C. N.; KELLINGRAY, S.; EASTELL, R.; COOPER, C. Intrauterine programming of adult body composition. *J Clin Endocrinol Metab*. 86(1): 267-272, 2001.

GALLAGHER, D.; RUTS, E.; VISSER, M.; HESHKA, S.; BAUMGARTNER, R. N.; WANG, J.; PIERSON, R. N.; PI-SUNYER, F. X.; HAYMSFIELD, S. B. Weight stability masks sarcopenia in elderly men and women. *Am J physiol Endocrinol Metab.* 279: E366-E375, 2000.

GALLAGHER, D.; RUTS, E.; VISSER, M.; HESHKA, S.; BAUMGARTNER, R. N.; WANG, J.; PIERSON, R. N.; PI-SUNYER, F. X.; HAYMSFIELD, S. B. Appendicular skeletal muscle mass: effects of age, gender, and ethnicity. *J Appl Physiol.* 83(1): 229-239, 1997.

GENECARDS <www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IGF-2&pubmed=202>. Acessado em 10/10/2006.

GEUSENS, P.; VANDEVYVER, C.; VANHOOF, J.; CASSIMAN, J. J.; BOONEN, S.; ROUS, J. Quadriceps and grip strength are related to vitamin D receptor genotype in elderly nonobese women. *Journal of Bone Mineral Research.* 12(12): 2082-2088, 1997.

GOLLNICK, P. D. Muscle Characteristics as a Foundation of Biomechanics. *Biomechanics.* VIII-A: 9-31, 1981.

GOMES, M. V. M.; SOARES, M. R.; PASQUALIM-NETO, A.; MARCONDES, C. R.; LOBO, R. B.; RAMOS, E. S. Association between birth weight, body mass index and IGF2/*Apal* polymorphism. *Growth Hormone e IGF Research.* 15: 360-362, 2005.

GOODPASTER, B. H.; CARLSON, C. L.; VISSER, M.; KELLEY, D. E.; SCHERZINGER, A.; HARRIS, T. B.; STAMM, E.; NEWMAN, A. B. Attenuation of skeletal muscle and strength in the elderly: the health ABC study. *J Appl Physiol.* 90: 2157-2165, 2001.

GTXINC. Disponível em: <<http://www.gtxinc.com/graphics/bmi.jp>>. Acessado em 17/07/2008.

GUERREIRO, T.; RODRIGUES, R. Envelhecimento bem-sucedido: utopia, realidade ou possibilidade? Uma abordagem transdisciplinar da questão cognitiva. In: VERAS, R. (Org.). *Terceira idade: alternativas para uma sociedade em transição*. Rio de Janeiro: Relume-Dumará: UERJ, UnATI, 1999.

GÜR, A.; NAS, K.; CEVIK, R.; SARAC, A. J.; ATAOGU, S.; KARAKOC, M. Influence of number of pregnancies on bone mineral density in postmenopausal women of different age groups. *Journal of Bone Mineral Metabolism*. 21: 234-241, 2003.

GURALNIK, J. M.; FERRUCCI, L.; SIMONSICK, E. M.; SALIVE, M. E.; WALLACE, R. B. Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. *N Engl J Med*. 332: 556-61, 1995.

HANSEN, R. D.; RAJA, C.; ASLANI, A.; SMITH, R. C.; ALLEN, B. J. Determination of skeletal muscle and fat-free mass by nuclear and dual-energy X-ray absorptiometry methods in men and women aged 51-84 y. *Am J Clin Nutri*. 70: 228-233, 1999.

HAUGK, K. L.; ROEDER, R. A.; GARBER, M. J.; SCHELLING, G. T. Regulation of muscle cell proliferation by extracts from crushed muscle. *J Anim Sci*. 73(7): 1972-1981, 1995.

HEUDE, B.; ONG, K. K.; LUBEN, R.; WAREHAM, N. J.; SANDHU, M. S. Study of association between common variation in the IGF2 gene and indices of obesity and body size in middle-age men and women. *The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism*. 92 (7): 2734-2738, 2007.

HUGHES, V. A.; FRONTERA, W. R.; WOOD, M.; EVANS, W. J.; DALLAL, G. E.; ROUBENOFF, R.; SINGH, M. A. F. Longitudinal muscle strength changes in older adults: influence of muscle mass, physical activity, and health. *Journal of Gerontology*. 56A(5): B209-B217, 2001.

IBGE (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios - PNAD 1999. Rio de Janeiro: IBGE, 1999. Disponível em:

<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento/pnad99/destaques.shtm>>. Acessado em 10/10/2006.

IBGE (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Projeção da População do Brasil: 1980-2050. Rio de Janeiro: IBGE, 2004. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao_da_populacao/piramide/piramide.shtm?c=1>. Acessado em 10/10/2006.

JI, L. L. Exercise at old age: does it increase or alleviate oxidative stress? *Ann N Y Acad Sci.* 928: 236-47, 2001.

KAHN, H. S.; NARAYAN, K. M.; WILLIAMSON, D. F.; VALDEZ, R. Relation of birth weight to lean and fat thigh tissue in young men. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 24(6): 667-72, 2000.

KAMEL, H. K. Sarcopenia and Aging. *Nutrition Reviews.* 61(5): 157-167, 2003.

KACHAR, V. *Terceira idade e informática: aprender revelando potencialidades.* 1ed. São Paulo: Cortez, 2003.

KENNY, A. M.; DAWSON, L.; KLEPPINGER, A.; IANNUZZI-SUCICH, M.; JUDGE, J. O. Prevalence of sarcopenia and predictors of skeletal muscle mass in nonobese women who are long-term users of estrogen-replacement therapy. *Journal of Gerontology.* 58A(5): 436-440, 2003.

KLEIN, C. S.; RICE, C. L.; MARSH, G. D. Normalized force, activation, and coactivation in the arm muscles of young and old men. *J Appl Physiol.* 91: 1341-1347, 2001.

KUH, D.; BASSEY, J.; HARDY, R.; SAYER A. A.; WADSWORTH, M.; COOPER, C. Birth weight, childhood size, and muscle strength in adult life: evidence from a birth cohort study. *Am J Epidemiol.* 156(7): 627-33, 2002.

KYLE, U. G.; GENTON, L.; HANS, D.; KARSEGARD, V. L.; MICHEL, J. P.; SLOSMAN, D. O.; PICHARD, C. Total body mass, fat mass, fat-free mass, and skeletal muscle in older people: cross-sectional differences in 60-year-old persons. *Journal of the American Geriatrics Society*. 49:1633-1640, 2001.

LARSSON, L.; GRIMBY, G.; KARLSSON, J. Muscle Strength and speed of movement in relation to age and muscle morphology. *Journal of Applied Physiology*. 46: 451-456, 1979.

LAU, E. M.; LYNN, H. S.; WOO, J. W.; KWOK, T. C.; MELTON, L. J. Prevalence of and Risk Factors for Sarcopenia in Elderly Chinese Men and Women. *Journal of Gerontology Biological Sciences and Medical Sciences*. 60: 213 – 216, 2005.

LEE, S. J. Regulation of muscle mass by myostatin. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 20: 61-86, 2004.

LIMA, L. M. C. *Correlação de elementos traço, densidade mineral óssea, massa livre de gordura e massa gorda em idosas*. Brasília, 2006. 64 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2006a.

LIMA, R. M. *Estudo de associação entre polimorfismos no gene receptor de vitamina D e massa livre de gordura em brasileiras pós-menopausadas*. Brasília, 2006. 97 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2006b.

LIMA, R. M.; ABREU, B. S.; GENTIL, P.; LINS, T. C.; GRATTAPAGLIA, D.; PEREIRA, R. W.; OLIVEIRA, R. J. Lack of association between vitamin d receptor genotypes and haplotypes with fat free mass in postmenopausal brazilian women. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*. 62A: 966-972, 2007.

LINDLE, R. S.; METTER, E. J.; LYNCH, N. A.; FLEG, J. L.; FOZARD, J. L.; TOBIN, J.; ROY, T. A.; HURLEY, B. F. Age and gender comparisons of muscle strength in

654 women and men aged 20-93yr. *Journal of Applied Physiology*. 83: 1581-1587. 1997.

LITVOC, J.; BRITO, F. C. *Envelhecimento: prevenção e promoção da saúde*. 1ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

LYNCH, N. A.; METTER, E. J.; LINDLE, R. S.; FOZARD, J. L.; TOBIN, J. D.; ROY, T. A.; FLEG, J. L.; HURLEY, B. F. Muscle quality. I. Age-associated differences between arm and leg muscle groups. *J Appl Physiol*. 86(1): 188-194, 1999.

MARSH, D.R.; CRISWELL, D. S.; HAMILTON, M. T.; BOOTH, F. W. Association of insulin-like growth factor mRNA expressions with muscle regeneration in young, adult, and old rats. *Am J Physiol*. 273(1 Pt 2): R353-8, 1997.

MATSUDO, S. M.; MATSUDO, V. K. R.; BARROS NETO, T. L.. Impacto do envelhecimento nas variáveis antropométricas, neuromotoras e metabólicas da aptidão física. *Rev Bras Ciên e Mov*. 8: 21-32, 2000.

McNALLY, E. M. Powerful genes-myostatin regulation of human muscle mass. *N Engl J Med*. 26: 2642-2644, 2004.

MELTON, L. J.; KHOSLA, S.; CROWSON, C.; O'CONNOR, M. K.; O'FALLON, W. M.; RIGGS, B. L. Epidemiology of sarcopenia. *J Am Geriatr Soc*. 48: 625-630, 2000.

METTER, E. J.; TALBOT, L. A.; SCHRAGER, M.; CONWIT, R. Skeletal muscle strength as a predictor of all-cause mortality in healthy men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 57(10): B359-65, 2002.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16: 1215, 1988.

MORLEY, J. E.; BAUMGARTNER, R. N.; ROUBENOFF, R.; MAYER, J.; NAIR, K. S. Sarcopenia. *J Lab Clin Med.* 137: 231-243, 2001.

NCBI. Disponível em

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=3481&ordinalpos=2&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum>. Acessado 12/12/2006.

NCBI. Disponível em <www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>. Acessado em 15/02/2007.

NEWITT, M. C. Epidemiology of osteoporosis. *Rheum. Dis. Clin. North A.* 20: 535-559, 1994.

NEWMAN, A. B.; KUPELIAN, V.; VISSER, M.; SIMONSICK, E.; GOODPASTER, B.; NEVITT, M.; KRITCHEVSKY, S. B.; TYLAVSKY, F. A.; RUBIN, S. M.; HARRIS, T. B. Sarcopenia: alternative definitions and associations with lower extremity function. *J Am Geriatr Soc.* 51: 1602-1609, 2003.

O'DELL, S. D.; MILLER, G. J.; COOPER, J. A.; HINDMARSH, P. C.; PRINGLE, P. J.; FORD, H.; HUMPHRIES, S. E.; DAY, I. N. Apal polymorphism in insulin-like growth factor II (*IGF-2*) gene and weight in middle-aged males. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 21(9): 822-5, 1997.

OVERAND, T. J.; CUNNINGHAM, D. A.; PATERSON, D. H.; LEFCOE, S. Thigh composition in young and elderly men determined by computed tomography. *Clinical Physiology.* 12: 629-640, 1992.

PAGTER-HOLTHUIZEN, P.; JANSEN, M.; VAN SCHAIK, F. M.; VAN DER KAMMEN, R.; OOSTERWIJK, C.; VAN DEN BRANDE, J. L.; SUSSENBACH, J. S. The human insulin-like growth factor II gene contains two development-specific promoters. *FEBS Lett.* 214(2): 259-64, 1987.

PASCHOAL, S. M. P. *Qualidade de vida do idoso: Elaboração de um instrumento que privilegia sua opinião*. São Paulo, 2000. 252p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2000.

RABELO, H. Y.; OLIVEIRA, R. J.; BOTTARO, M. Effects of resistance training on activities of daily living in older women. *Biology os Sport*. 21 (4): 325-336, 2004.

RASO, V.; ANDRADE, E. L.; MATSUDO, S. M.; MATSUDO, V. K. R. Exercícios com pesos para mulheres idosas. *Revista brasileira de atividade física e saúde*. 2(4): 17-26, 1997.

REED, T.; FABBITZ, R. R.; SELBY, J. V.; CARMELLI, D. Genetic influences and grip strength norms in the NHLBI twin study males aged 59-69. *Ann Hum Biol*. 18(5): 425-32, 1991.

REEVES, N. D.; NARICI, M. V.; MAGANARIS, C. N. Effect of resistance training on skeletal muscle-specific force in elderly humans. *J Appl physiol*. 96: 885-892, 2004.

RICE, D. P.; LAPLANTE, M. P. Medical expenditures for disability and disabling comorbidity. *Am J Public Health*. 82: 739-741, 1992.

ROSENBERG, I. H.; Sarcopenia: origins and clinical relevance. *The journal of nutrition*. 127(5): 990S-991S, 1997.

ROSENBERG I. H. Epidemiologic and methodologic problems in determining nutritional status of older persons. *American Journal of Clinical Nutrition*. 50: 1231–1233, 1989.

ROTH, S. M.; FERRELL, R. F.; HURLEY, B. F. Strength training for the prevention and treatment of Sarcopenia. *Nutr Health Aging*. 4(3): 143-155, 2000.

ROTH, S. M.; SCHRAGER, M. A.; FERRELL, R. E.; RIECHMAN, S. T.; METTER, E. J.; LYNCH, N. A.; LINDLE, R. S.; HURLEY, B. F. CNTF genotype is associated with

muscular strength and quality in humans across the adult age span. *J Appl Physiol.* 90: 1205-1210, 2001.

ROTH, S. M., ZMUDA, J. M., CAULEY, J. A., SHEA, P. R., FERRELL, R. E. Vitamin D receptor genotype is associated with fat-free mass and sarcopenia in elderly men. *Journal of Gerontology Biological Sciences and Medical Sciences.* 59A(1): 10-15, 2004.

ROTWEIN, P.; HALL, L. J. Evolution of insulin-like growth factor II: characterization of the mouse IGF-II gene and identification of two pseudo-exons. *DNA Cell Biol.* 9(10): 725–735, 1990.

ROUBENOFF, R.; HEYMSFIELD, S. B.; KEHAYIAS, J. J.; CANNON, J. G.; ROSENBERG, I. H. Standardization of nomenclature of body composition in weight loss. *American Journal of Clinical Nutrition.* 66: 192–196, 1997.

SAYER, A. A.; SYDDALL, H.; O'DELL, S. D.; CHEN, X; BRIGGS, P. J.; BRIGGS, R.; DAY, I. N. M.; COOPER C. Polymorphism of the IGF-2 gene, birth weight and grip strength in adult men. *British Geriatrics Society.* 31: 468-470, 2002.

SCHOFIELD PN. Molecular biology of the insulin-like growth factors: gene structure and expression. *Acta Paediatr Scand.* 372: 83-90, 1991.

SCHRAGER, M. A.; ROTH, S. M.; FERRELL, R. E.; METTER, E. J.; RUSSEK-COHEN, E.; LYNCH, N. A.; LINDLE, R. S.; HURLEY, B. F. Insulin-like growth factor-2 (IGF-2) genotype, fat-free mass, and muscle performance across the adult life span. *J Appl Physiol.* 97: 2176-2183, 2004.

SCHROLL, M. The main pathway to musculoskeletal disability. *Scandinavian Journal of Medicine Science Sports.* 4(1): 3-12, 1994.

SHEPHARD, R.J. Aging and Exercise. In: Encyclopedia of Sports Medicine and Science, Internet Society for Sport Science: <http://sportsci.org>. 7 March 1998.

<<http://aob.sites.uol.com.br/artigo1.htm>.> Acessado em 19/09/2006.

SKELTON, D. A.; BEYER, N. Exercise and injury prevention in older people. *Med Sci Spots*. 13: 77-85, 2003.

SOUZA, L. H. R. *Massa livre de gordura e polimorfismos no gene fator neutrófico ciliar (CNTF) em brasileiras pós-menopausadas*. Brasília, 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2007.

STALBERG, E.; BORGES, O.; ERICSSON, M.; ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; FAWCETT, P. R. W.; NORDESJÖ, L. O.; NORDGREN, B.; UHLIN, R. The quadriceps femoris muscle in 20–70 year old subjects: relationships between knee extension torque electrophysiological parameters and muscle fiber characteristics. *Muscle Nerve*. 12: 382–389, 1989.

SULLIVAN, P. F. Spurious Genetic Associations. *Biological Psychiatry*. 61: 1121-1126, 2007.

SZULK, P.; DUBOEUF, F.; MARCHAND, F.; DELMAS, P. D. Hormonal and lifestyle determinants of appendicular skeletal muscle mass in men: the MINOS study. *Am J Clin Nutr*. 80: 496-503, 2004.

TERRERI, A. S. A. P.; GREVE, D. M. J.; AMATUZZI, M. M. Avaliação isocinética no joelho do atleta. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 7(2): 62-66, 2001.

THOMAS, J. R.; NELSON, J. K. *Métodos de Pesquisa em Atividade Física*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

THORSTENSSON, A.; GRIMBY, G.; KARLSSON, J. Force-velocity relations and fiber composition in human knee extensor muscles. *Journal of Applied Physiology*. 40: 12-16, 1976.

TORETSKY, J. A.; HELMAN, L. J. Involvement of IGF-II in human cancers. *J Endocrinol.* 149: 367-372, 1996.

TRICOLI JV, RALL LB, SCOTT J, BELL GI, SHOWS TB. Localization of insulin-like growth factor genes to chromosomes 11 and 12. *Nature.* 310:784-786, 1994.

YOUNG, A.; STOKES, M.; CROWE. M. Size and strength of the quadriceps muscle of old and young men. *Clinical Physiology.* 5: 145-154, 1985.

ANEXOS

10 ANEXOS

ANEXO A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Pesquisadores Responsáveis:

- **Docentes Internos**

Ricardo Jacó de Oliveira (Coordenador)

Rinaldo Wellerson Pereira – Prof. do programa de pós-graduação em Educação Física.

Adriana Cardoso Furtado Jacó de Oliveira – Aluna do Doutorado em Educação Física

- **Alunos Pós-Graduação**

Luiz Humberto Rodrigues Souza – Aluno do Mestrado em Educação Física

Lidia Mara Aguiar Bezerra – Aluna do Doutorado em Educação Física

Maria Alcione Freitas e Silva - Aluna do Mestrado em Educação Física

Heloisa Thomaz Rabelo - Aluna do Doutorado em Educação Física

Tailce Kaley Moura Leite - Aluna do Mestrado em Educação Física

Ricardo Moreno Lima – Aluno do Doutorado em Educação Física

Carlos Ernesto Santos Ferreira – Aluno do Mestrado em Educação Física

ESCLARECIMENTO DAS AVALIAÇÕES

Eu

estou sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada: “Genética e atividade física em idosas brasileiras: estudos de associação e respostas ao exercício entre polimorfismos dos genes VDR, IGF-2, CNTF, GDF-8, Col1 A1, ACE e a variação nos fenótipos massa e força muscular, controle motor, densidade mineral óssea, respostas hormonais e VO₂ max”. Este é um estudo que pretende investigar se as minhas características genéticas podem estar associadas a possíveis alterações na força e na massa muscular, densidade mineral óssea, respostas hormonais, o

consumo máximo de oxigênio e o controle motor. Fui informado que essa pesquisa poderá auxiliar melhor o entendimento de como as minhas características genéticas podem variar em relação as minhas capacidades físicas e como responderão ao treinamento de força. Esses dados são importantes não só para prescrição de atividade física, na terceira idade, bem como auxiliar no entendimento da evolução ou manifestações de doenças desde o nascimento.

Para que eu possa decidir sobre minha participação, fui suficientemente esclarecido que os testes que irei tomar parte serão:

Avaliação da composição corporal

Será realizada por um profissional de Educação Física, serão avaliadas a estatura (altura) e massa corporal em uma balança digital. Trata-se de uma medida indolor e não-invasiva, tem como objetivo de determinar o Índice de Massa Corporal, o qual classifica o indivíduo como normal, sobre-peso e obeso. Para isso, eu realizarei a avaliação com roupas leves e descalço para que não ocorram medidas alteradas. Sendo uma avaliação que não apresenta nenhum risco.

Coleta Sangüínea

Estou ciente e concordei em participar das coletas sangüíneas, que serão realizadas por pessoas qualificadas, com treinamento específico na área de manipulação de material biológico. A coleta realizar-se-á com materiais descartáveis que serão manipulados na minha presença. Trata-se de um método invasivo e dolor (dependendo da pessoa), os possíveis riscos seriam mal estar e síncope (tontura) no momento da coleta, além de hematomas ou dor local após a coleta. A avaliação será feita através de uma amostra sangüínea retirada da veia situada no antebraço. Também fui informado que o sangue coletado será armazenado para análises genéticas, hormonais e do metabolismo ósseo. Esta avaliação tem o objetivo de identificar qual grupo de genótipo eu pertencço, para isso minha amostra sangüínea será cuidadosamente armazenada e analisada no Laboratório de Estudos em Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília campus 2. Além disso, também serão analisadas, por meio dessa mesma amostra, os marcadores bioquímicos de que demonstram a remodelação óssea, níveis de cálcio e vitamina D. Estas análises serão realizadas no LEEFS. Sendo que, os resultados dessas análises me serão entregues.

Avaliação da Densitometria Óssea e Metabolismo Ósseo

Além do exposto acima, fui suficientemente informada que também serei submetida a avaliações da minha densidade mineral óssea através do método de absorptometria de raio X de dupla energia (DXA), que é um método não-invasivo no qual permanecerei deitada na maca do aparelho por 5-10 minutos, enquanto o raio-X atravessa a área a ser examinada. Esta técnica é indolor, muito segura, de alta precisão e a exposição à radiação é de apenas 1 % e, com uma margem de erro de apenas 1-2% entre medidas repetidas. Este exame será realizado no laboratório de imagem da Universidade Católica de Brasília. Não existindo nenhum risco a minha saúde possivelmente causado pela radiação, sendo um procedimento seguro e que não apresenta efeitos adversos.

Avaliação da Potência Aeróbia

A capacidade cardiovascular será avaliada através da ergoespirometria direta, que é um exame no qual eu terei de caminhar ou correr em uma esteira elétrica, conectado a aparelhos de avaliação, tais como eletrodos para avaliar o comportamento do coração e máscara para captar amostras do ar respirado. Os possíveis riscos ao realizar os exercícios na esteira incluem: dor no peito, tonturas, náuseas, dores musculares, alterações da pressão arterial. Caso um ou mais dos sintomas citados venham a ocorrer, os equipamentos e cuidados de primeiros socorros proporcionarão toda a segurança necessária; sendo o eletrocardiograma monitorado continuamente pelo médico cardiologista, porém as chances de haver intercorrências são mínimas, sendo esse um procedimento seguro.

Avaliação da Força Muscular

Participarei também do teste que avalia a força muscular dos membros inferiores (coxa) e superiores (braço). Esse teste será realizado num aparelho isocinético no qual terei que realizar movimentos simples com o braço e com a perna, até atingir as medidas requisitadas pelo pesquisador. Os riscos deste teste seriam o aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca, dor e fadiga muscular, porém, todos os testes serão acompanhados por profissionais capacitados a me auxiliarem caso algum desses sintomas venham a ocorrer.

Teste de 1 RM

Aplicar-se-á, também, o teste de uma repetição máxima (1 RM), cuja finalidade é mensurar a força máxima dinâmica para determinar com precisão a sobrecarga de treinamento e melhor prescrição do exercício. Inicialmente será selecionado um peso, o qual eu consiga realizar o movimento, após um aquecimento no próprio aparelho, em seguida será adicionado peso até que se chegue a um valor que não permita que eu consiga realizar um movimento completo. Com isso, será considerado 50% do total de peso para realização dos exercícios e quando houver adaptação neuro-muscular será realizado re-teste para ajuste de carga aumentando até 80% de 1RM. Será realizado 3 séries de 8 a 10 repetições para cada exercício, em intervalos entre as séries de 1 minuto e entre os exercícios. Assim como no teste anterior podem aparecer sintomas de dor e fadiga na musculatura, porém, a presença do profissional de Educação Física garantirá a minha segurança durante a realização deste teste.

Além dos testes acima descritos também fui esclarecido que, caso seja da minha vontade, tomarei parte em um grupo de treinamento físico, como descrito abaixo:

Treinamento de Força

O treinamento de força consistirá em exercitar a musculatura com aparelhos específicos os quais estabilizam as articulações e possuem cargas externas. Os exercícios devem ser realizados de acordo com as orientações do profissional da educação física devidamente qualificados para realizar trabalhos com esta população. Esta atividade tem como objetivo melhorar e/ou preservar a massa muscular o que poderá também influenciar nas variáveis hormonais, no metabolismo ósseo, na aptidão cardio-respiratória. O programa terá duração de 6 meses, com frequência de 3 vezes por semana e com duração de uma hora por sessão. O local de treinamento será na sala de musculação, devidamente equipada e dentro das normas de segurança, do LEEFS da Universidade Católica de Brasília.

Fui informado de que o pesquisador responsável suspenderá a pesquisa imediatamente, e em qualquer fase, ao perceber algum risco ou dano à saúde do

participante, incluindo riscos não previstos neste termo de consentimento. Além disso, o pesquisador assumirá a responsabilidade de dar assistência integral aos danos decorrentes dos riscos. Contudo, foi-me informado que a pesquisa na qual estarei participando não envolve mais do que risco mínimo; e que serei acompanhado em tempo integral por profissionais capacitados que se esforçarão ao máximo para me manterem seguro e confortável.

As informações obtidas neste experimento, por meio dos resultados de todos os testes, poderão ser utilizados como dados de pesquisa científica, podendo ser publicados e divulgados, sendo resguardada a identidade e privacidade das participantes. Portanto, os dados coletados estarão acessíveis somente aos pesquisadores envolvidos, não sendo permitido o acesso a terceiros, tais como seguradoras e empregadores. Além disso, será mantido o sigilo individual visando proteger os participantes de qualquer tipo de discriminação ou estigmatização. O material biológico (sangue) obtido de cada participante será armazenado no banco de dados da Universidade Católica de Brasília, com a possibilidade de ser usado em novas pesquisas. Para isso, será indispensável que o sujeito seja contatado para conceder nova autorização para uso do material em novos projetos. Também é necessária aprovação do CEP para utilizar o material armazenado em novas pesquisas.

Além disso, a minha participação desta pesquisa é voluntária. Concordei em estar presente no local dos testes nos dias e horários marcados, informar ao professor pesquisador qualquer desconforto que por acaso venha a perceber. Fui informado(a) que poderei a qualquer momento desligar-me da presente pesquisa sem nenhum constrangimento. Eu estou livre para negá-la ou para em qualquer momento desistir da mesma se assim desejar.

Declaro ter lido este termo de consentimento e compreendido os procedimentos nele descritos. Informo também que todas as minhas dúvidas foram respondidas de forma clara e de fácil compreensão. Estou ciente e estou de acordo em participar da referida pesquisa.

Brasília, _____ de _____ de 2007

Nome Voluntário: _____

RG: _____

Assinatura: _____

Nome Testemunha: _____

RG: _____

Assinatura: _____

Nome Testemunha: _____

RG: _____

Assinatura: _____

Nome Pesquisador: _____

RG: _____

Assinatura: _____

ANEXO B: Aprovação do Comitê de Ética**Universidade Católica de Brasília - UCB
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP**

Brasília, 20 de março de 2007

Ofício CEP/UCB N° 024/2007

Prezado senhor,

É com satisfação que informamos formalmente a V. Sa. que o projeto “Genética e atividade física em idosos brasileiros: estudo de associação e respostas ao exercício entre polimorfismos dos genes VCR, GDF-8, Col1 A1, ACE e a variação nos fenótipos massa e força muscular, controle motor, densidade mineral óssea, respostas hormonais e VO₂ max. proposto por Rinaldo Wellerson, Adriana Cardoso Furtado, Lídia Mara Aguiar Bezerra, Maria Alcione Freitas e Silva, Heloisa Thomaz Rabelo, Tailce Kaley Moura Leite, Ricardo Moreno Lima, Carlos Ernesto Santos Ferreira, Túlio César de Lima Lins, Breno Silva de Abreu, Ana Cláudia de Jesus Teixeira, Meiriele Luisa da Silva, Priscila Álvares Lasse e Rodrigo Gomes Vieira, orientados pelo prof. Dr. Ricardo Jacó de Oliveira”, foi aprovado por este CEP, em sua 61ª Reunião, realizada em 20 de março do corrente., podendo, portanto, o projeto ter a sua fase de coleta de dados iniciada. Informamos ainda que no prazo máximo de 1 (um) ano a contar desta data deverá ser enviado a este CEP um relatório sucinto sobre o andamento da presente pesquisa.

Informamos ainda que para efeito de utilização em publicações, o referido projeto encontra-se registrado sob o número **CEP/UCB 014/2007**.

Atenciosamente,



Prof. Marcelo Silveira de Alcântara, MSc.
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa - UCB

Ilmo Sr
Ricardo Jacó de Oliveira
Brasília – DF
NESTA

ANEXO C: Questionário de Caracterização da Amostra

Muito obrigada por participar do nosso estudo. Por favor, preencha a ficha abaixo para podermos conhecê-la melhor.

Nome: _____

Data de nascimento: ____/____/____

Cidade/Estado de nascimento: _____/_____

Em que país você nasceu? _____

Em que país seus pais nasceram? _____

Em que país seus avós nasceram? _____

Você fuma? () Não () Sim. Há quanto tempo? _____

Qual a cor de sua pele? () Branca () Negra () Morena () Indígena

Você faz terapia de reposição hormonal? () Não () Sim.

Há quanto tempo? _____

Marque um "X" caso você tenha alguma das patologias abaixo:

() Hipertensão () Diabetes () Osteoporose () Outros: _____

Você está tomando algum medicamento? () Não () Sim.

Qual (is)? _____

Muito Obrigada!

ANEXO D: Questionário Internacional de Atividade Física – Versão Longa



QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA

Nome: _____ **Data:** ___ / ___ / ___

Idade : _____ **Sexo:** F () M ()

Você trabalha de forma remunerada: () Sim () Não. **Quantas horas você trabalha por dia:** _____ **Quantos anos completos você estudou:** _____ **De forma geral sua saúde está:** () Excelente () Muito boa () Boa () Regular () Ruim

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação à pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física em uma semana **ultima semana**. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são **MUITO** importantes. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação!

Para responder as questões lembre que:

- Atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- Atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

SEÇÃO 1 - ATIVIDADE FÍSICA NO TRABALHO

Esta seção inclui as atividades que você faz no seu serviço, que incluem trabalho remunerado ou voluntário, as atividades na escola ou faculdade e outro tipo

de trabalho não remunerado fora da sua casa. **NÃO** incluir trabalho não remunerado que você faz na sua casa como tarefas domésticas, cuidar do jardim e da casa ou tomar conta da sua família. Estas serão incluídas na seção 3.

1a. Atualmente você trabalha ou faz trabalho voluntário fora de sua casa?
 Sim Não – Caso você responda não **Vá para seção 2: Transporte**

As próximas questões são em relação a toda a atividade física que você fez na **ultima semana** como parte do seu trabalho remunerado ou não remunerado. **NÃO** inclua o transporte para o trabalho. Pense unicamente nas atividades que você faz por **pelo menos 10 minutos contínuos**:

1b. Em quantos dias de uma semana normal você **anda**, durante **pelo menos 10 minutos contínuos**, como parte do seu trabalho? Por favor, **NÃO** inclua o andar como forma de transporte para ir ou voltar do trabalho.

_____ dias por **SEMANA** nenhum - **Vá para a seção 2 - Transporte.**

1c. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** caminhando **como parte do seu trabalho** ?

_____ horas _____ minutos

1d. Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades **moderadas**, por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como carregar pesos leves **como parte do seu trabalho**?

_____ dias por **SEMANA** nenhum - **Vá para a questão 1f**

1e. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades moderadas **como parte do seu trabalho**?

_____ horas _____ minutos

1f. Em quantos dias de uma semana normal você gasta fazendo atividades **vigorosas**, por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como trabalho de construção pesada, carregar grandes pesos, trabalhar com enxada, escavar ou subir escadas **como parte do seu trabalho**:

_____ dias por **SEMANA** () nenhum - **Vá para a questão 2a.**

1g. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades físicas vigorosas **como parte do seu trabalho**?

_____ horas _____ minutos

SEÇÃO 2 - ATIVIDADE FÍSICA COMO MEIO DE TRANSPORTE

Estas questões se referem à forma típica como você se desloca de um lugar para outro, incluindo seu trabalho, escola, cinema, lojas e outros.

2a. O quanto você andou na ultima semana de carro, ônibus, metrô ou trem?

_____ dias por **SEMANA** () nenhum - **Vá para questão 2c**

2b. Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA andando de carro, ônibus, metrô ou trem**?

_____ horas _____ minutos

Agora pense **somente** em relação a caminhar ou pedalar para ir de um lugar a outro na ultima semana.

2c. Em quantos dias da ultima semana você andou de bicicleta por **pelo menos 10 minutos contínuos** para ir de um lugar para outro? (**NÃO** inclua o pedalar por lazer ou exercício)

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para a questão 2e.**

2d. Nos dias que você pedala quanto tempo no total você pedala **POR DIA** para ir de um lugar para outro?

_____ horas _____ minutos

2e. Em quantos dias da ultima semana você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** para ir de um lugar para outro? (**NÃO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício)

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para a Seção 3.**

2f. Quando você caminha para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta? (**NÃO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício)

_____ horas _____ minutos

SEÇÃO 3 – ATIVIDADE FÍSICA EM CASA: TRABALHO, TAREFAS DOMÉSTICAS E CUIDAR DA FAMÍLIA.

Esta parte inclui as atividades físicas que você fez na ultima semana na sua casa e ao redor da sua casa, por exemplo, trabalho em casa, cuidar do jardim, cuidar do quintal, trabalho de manutenção da casa ou para cuidar da sua família. Novamente pense **somente** naquelas atividades físicas que você faz **por pelo menos 10 minutos contínuos**.

3a. Em quantos dias da ultima semana você fez atividades **moderadas** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer, rastelar **no jardim ou quintal**.

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para questão 3b.**

3b. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo no total você gasta **POR DIA** fazendo essas atividades moderadas **no jardim ou no quintal**?

_____ horas _____ minutos

3c. Em quantos dias da ultima semana você fez atividades **moderadas** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer ou limpar o chão **dentro da sua casa**.

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para questão 3d.**

3d. Nos dias que você faz este tipo de atividades moderadas **dentro da sua casa** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

_____ horas _____ minutos

3e. Em quantos dias da ultima semana você fez atividades físicas **vigorosas no jardim ou quintal** por pelo menos 10 minutos como carpir, lavar o quintal, esfregar o chão:

_____ dias por **SEMANA** () Nenhum - **Vá para a seção 4.**

3f. Nos dias que você faz este tipo de atividades vigorosas **no quintal ou jardim** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

_____ horas _____ minutos

SEÇÃO 4 - ATIVIDADES FÍSICAS DE RECREAÇÃO, ESPORTE, EXERCÍCIO E DE LAZER

Esta seção se refere às atividades físicas que você fez na ultima semana unicamente por recreação, esporte, exercício ou lazer. Novamente pense somente

nas atividades físicas que faz **por pelo menos 10 minutos contínuos**. Por favor, **NÃO** inclua atividades que você já tenha citado.

4a. Sem contar qualquer caminhada que você tenha citado anteriormente, em quantos dias da ultima semana você caminhou **por pelo menos 10 minutos contínuos no seu tempo livre?**

_____ dias por SEMANA () Nenhum - Vá para questão 4b

4b. Nos dias em que você caminha no seu tempo livre, quanto tempo no total você gasta **POR DIA?**

_____ horas _____ minutos

4c. Em quantos dias da ultima semana você fez atividades moderadas no seu tempo livre por pelo menos 10 minutos, como pedalar ou nadar a velocidade regular, jogar bola, vôlei, basquete, tênis:

_____ dias por SEMANA () Nenhum - Vá para questão 4d.

4d. Nos dias em que você faz estas atividades moderadas no seu tempo livre quanto tempo no total você gasta **POR DIA?**

_____ horas _____ minutos

4e. Em quantos dias da ultima semana você fez atividades vigorosas no seu tempo livre por pelo menos 10 minutos, como correr, fazer aeróbicos, nadar rápido, pedalar rápido etc.:

_____ dias por SEMANA () Nenhum - Vá para seção 5.

4f. Nos dias em que você faz estas atividades vigorosas no seu tempo livre quanto tempo no total você gasta **POR DIA?**

_____ horas _____ minutos

SEÇÃO 5 - TEMPO GASTO SENTADO

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

5a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um **dia de semana?**

_____ horas _____ minutos

5b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um **dia de final de semana?**

_____ horas _____ minutos

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](#)