

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

**ASSOCIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA E DO POLIMORFISMO G894T DA ENZIMA
ÓXIDO NÍTRICO SINTASE ENDOTELIAL (NOS3) NA PREVALÊNCIA DE
FATORES DE RISCO E MORBIDADES CARDIOVASCULARES EM IDOSOS**

LUCIANO CASTRO

**PORTO ALEGRE
2006**

LUCIANO CASTRO

**ASSOCIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA E DO POLIMORFISMO G894T DA ENZIMA
ÓXIDO NÍTRICO SINTASE ENDOTELIAL (NOS3) NA PREVALÊNCIA DE
FATORES DE RISCO E MORBIDADES CARDIOVASCULARES EM IDOSOS**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, pelo programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Bodanese

PORTO ALEGRE

2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C355a Castro, Luciano
Associação da atividade física e do polimorfismo G894T da enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS3) na prevalência de fatores de risco e morbidades cardiovasculares em idosos / Luciano Castro. – Porto Alegre, 2006.
126 f. : il.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS, 2006.
Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Bodanese.

1. Óxido Nítrico. 2. Doença Cardiovascular. 3. Atividade Física. 4. eNOS. 5. NOS3. 6. Idosos. 7. Polimorfismo G894T. 8. IPAQ. 9. Polimorfismo Genético. 10. Endotélio. I. Bodanese, Luiz Carlos. III. Título.

CDU 616-053.9
796-053.9

Bibliotecária Responsável: Deisi Hauenstein CRB 10/1479

LUCIANO CASTRO

**ASSOCIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA E DO POLIMORFISMO G894T DA ENZIMA
ÓXIDO NÍTRICO SINTASE ENDOTELIAL (NOS3) NA PREVALÊNCIA DE
FATORES DE RISCO E MORBIDADES CARDIOVASCULARES EM IDOSOS**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, pelo programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS.

Aprovada em, 28 de agosto de 2006.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Cristina Pansera de Araújo

Profa. Dra. Carla Helena Augustin Schwanke

Profa. Dra. Aline Nogueira Haas

Prof. Dr. Rodolfo Herberto Schneider

Dedico esta Tese a minha mãe (*In Memoriam*), de quem escutei ao longo da vida, que a mais valiosa herança que os pais podem deixar a seus filhos é lhes oportunizar o estudo.

AGRADECIMENTOS

Neste local devemos expressar nossa gratidão a todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a conclusão deste trabalho, que representa uma etapa extremamente importante em minha vida. Somente tem a dimensão do que é fazer um doutorado aqueles que passam por essa experiência. Todas as pessoas com as quais conversei e que passaram por esta experiência, têm as mais variadas histórias a respeito deste período em suas vidas, mas nenhuma delas expressa a idéia de que foi algo tranqüilo, podem ter havido momentos de descontração e tranqüilidade, mas a reta final é sempre estressante.

Com isso, entendo que muitas pessoas deveriam ter seus nomes aqui citados, amigos, colegas, professores, funcionários, esposa, pais, avós, etc, etc, afinal, muitas pessoas colaboraram das mais variadas formas e nos mais variados momentos para que esta etapa se encerrasse com êxito.

A todos esses o meu muitíssimo obrigado, pelas mais diversas formas de ajuda.

Entretanto duas pessoas merecem e devem ser citadas nominalmente, pois entendo que sem sua ajuda e compreensão este trabalho não teria chegado ao fim.

Profa. Dra. Ivana Beatrice Manica da Cruz, a quem devo muito e com quem certamente nunca conseguirei quitar minha dívida de gratidão. Muitas palavras me vêm à cabeça para agradecer tudo o que fez por mim, no entanto de todas elas, creio que dizer “OBRIGADO POR SERES QUEM TU ÉS”, resume todo meu respeito, admiração e orgulho por ter podido trabalhar com ela. Infelizmente problemas alheios a nossa vontade fizeram com que tivéssemos que nos afastar fisicamente, mas certamente continuamos unidos pelos laços da amizade, fazendo com que a palavra “distância” não tenha significado.

Prof. Dr. Luiz Carlos Bodanese, que me recebeu de braços abertos num momento bastante crítico do desenvolvimento deste trabalho, me ouviu e compreendeu o problema que se configurava com o afastamento da Profa. Ivana, que me deu um voto de confiança mesmo tendo tido pouco contato comigo, dando

todo o apoio que se fazia necessário num momento crucial, que foi o fechamento deste trabalho. MUITO OBRIGADO por seu olhar crítico, por suas orientações, por suas palavras, por sua compreensão, por seu acolhimento.

Antes do compromisso,
há hesitação, a oportunidade de recuar,
uma ineficácia permanente.
Em todo o ato de iniciativa (e de criação),
há uma verdade elementar,
cujo desconhecimento destrói muitas idéias
e planos esplêndidos.
No momento em que nos comprometemos de fato, a
Providência também age.
Ocorre toda espécie de coisas para nos ajudar,
coisas que de outro modo nunca aconteceriam.
Toda uma cadeia de eventos emana da decisão,
fazendo vir em nosso favor todo tipo
de encontros, de incidentes
e de apoio material imprevistos, que ninguém
poderia sonhar que surgiriam em seu caminho
Começa tudo o que possas fazer,
ou que sonhas poder fazer.
A ousadia traz em si o gênio, o poder e a magia.

Goethe

RESUMO

Introdução: estudos epidemiológicos apontaram diferentes fatores protetores e de risco para morbidades cardiovasculares incluindo variáveis ambientais como a atividade física (AF) e genéticas como o polimorfismo G894T da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (NOS3/eNOS). **Objetivos:** investigar a interação entre AF cotidiana e o polimorfismo G894T da NOS3 em idosos que vivem em Gravataí-RS com fatores de risco e morbidades cardiovasculares. **Material e métodos:** estudo observacional no qual 437 idosos foram avaliados para determinação do polimorfismo G894T da NOS3 através da técnica de PCR-RFLP com a enzima de restrição *Ban II*. Destes, 174 foram avaliados quanto ao nível de AF pelo *International Physical Activity Questionary* (IPAQ) e história prévia de fatores de risco e morbidades cardiovasculares. Na análise estatística, foram utilizados os testes qui-quadrado ou Exato de Fisher, análise de variância *One-Way* seguida de teste *post hoc* de Bonferroni ou teste *Student t*. **Resultados:** as freqüências alélicas e genotípicas nos 437 indivíduos foram: G= 0,655, T= 0,345 e GG = 38,8% (169), GT= 53,3% (234) e TT= 7,8%(34); já no grupo dos 174 indivíduos foram: G= 0,672, T= 0,328 e GG= 39,7% (69), GT= 54,6% (96) e TT= 5,7% (09). As freqüências estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg sendo similares às descritas para populações caucasianas. A prevalência do nível de AF foi: SA= 78,0% (136) e IA= 22,0% (38). A prevalência dos fatores de risco e morbidades cardiovasculares foi similar entre os grupos SA e IA e entre os idosos com diferentes genótipos da NOS3 com exceção da obesidade que foi significativamente maior em portadores de pelo menos um alelo T (RC= 2,947; IC95%= 1,519-5,718). Através da análise da interação entre AF e o polimorfismo (feita somente em idosos AS), verificou-se a manutenção da associação entre o alelo T e maior prevalência de obesidade (RC= 3,866; IC95%= 1,777-8,412) e entre o alelo T e menor prevalência de hipertensão arterial sistêmica (RC= 0,110; IC95%= 0,012-0,960). **Conclusão:** os resultados obtidos sugerem a existência de interação entre o polimorfismo G894T da NOS3 com AF.

Palavras-chave: óxido nítrico, doença cardiovascular, atividade física.

ABSTRACT

Introduction: epidemiological studies have shown the cardiovascular disease risk and protective factors, including environmental variables, such as physical activity, and genetic variables, such as G894T polymorphism present in endothelial oxide nitric synthase (NOS3). **Objectives:** to investigate the interaction between physical activity and G894T polymorphism of NOS3 gene in a free living elderly community with risk factor indexes and cardiovascular morbidities. **Material and methods:** an observational study was performed, at first, on 437 elders in order to determine the G894T NOS3 polymorphism allelic and genotype frequencies. From that initial group, 174 subjects were physically evaluated using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), as well as their previous history of cardiovascular risk and morbidities. The elderly were classified in sufficiently (SA) and insufficiently actives (IA). NOS3 polymorphism was determined by Polymerase Chain Reaction technique followed by the Restriction Fragment Length Polymorphism technique using *Ban II* restriction enzyme. Statistical analyses were performed using chi-square test, Fisher Exact test, One-Way variance analysis followed by post hoc Bonferroni test or Student t test. **Results:** allelic and genotypic frequencies in the 437 subjects were: G= 0,655, T= 0,345 e GG= 38,8% (169), GT= 53,3% (234) e TT= 7,8% (34); in the group of 174 subjects they were: G= 0,672, T= 0,328 and GG= 39,7% (69), GT= 54,6% (96) e TT= 5,7% (09). Both groups presented genetic frequencies in Hardy-Weinberg equilibrium, being similar to those described for Caucasian populations. Physical activity prevalence was: SA= 78,0% (136) and IA= 22,0% (38). The prevalence of cardiovascular risk factors and morbidities were similar between SA and IA groups with different NOS genotypes, with the exception of obesity, which was significantly higher for carriers of at least one T allele [Odds ratio (OR)= 2,947, Confidence Interval at 95% (CI95%)= 1,519-5,718]. Interaction analysis between physical activity and the NOS3 polymorphism was performed only in SA group subjects due to the low sample number of individuals in the IA group. In addition to the association of the T allele and the higher prevalence of obesity (OR= 3,866, CI95%= 1,777-8,412), it was observed some positive associations between T allele and lower Systemic Arterial Hypertension prevalence (OR= 0,110, CI 95%= 0,012-

0,960). **Conclusion:** results suggest interaction between physical activity and the G894T polymorphism.

Key words: nitric oxide. cardiovascular disease. physical activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema geral mostrando os dois principais mecanismos regulatórios do controle da distribuição do sangue no organismo e dentro do vaso. Destaca-se o papel de moléculas que modulam a vasodilatação como é o caso do óxido nítrico.....	32
Figura 2	Principais Funções do Polimorfismo da Enzima Óxido Nítrico Sintase.....	34
Figura 3	Biossíntese do óxido nítrico (NO).....	36
Figura 4	Expectativas de vida ao nascer para o ano de 2000.....	59
Figura 5	Prevalência dos fatores de risco cardiovascular e efeito de dose alélica do polimorfismo da NOS3 em idosos (GG x TT+GT e TT x GG+GT).....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores do perfil lipídico segundo as recomendações da III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia para Adultos (>20 anos)....	63
Tabela 2	Características gerais da amostra investigada.....	69
Tabela 3	Prevalência dos fatores de riscos e morbidades coronarianas em homens e mulheres idosos.....	69
Tabela 4	Prevalência dos fatores de riscos e morbidades coronarianas em idosos suficientemente (SA) e insuficientemente ativos (IA)	70
Tabela 5	Comparação de variáveis biológicas relacionadas com o risco cardiovascular entre idosos com diferentes genótipos do polimorfismo G894T do gene da enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS3).....	71
Tabela 6	Comparação da prevalência dos fatores de riscos e morbidades coronarianas em idosos com diferentes genótipos do polimorfismo da NOS3.....	72
Tabela 7	Descrição da razão de chance (<i>Odds Ratio</i>) obtida na análise da associação do efeito de dose o polimorfismo da NOS3 (GG x TT+GT e TT x GG+GT) com riscos e morbidades coronarianas em idosos.....	74
Tabela 8	Comparação de variáveis biológicas relacionadas com o risco cardiovascular entre idosos classificados como suficientemente ativos (SA) portadores de diferentes genótipos do polimorfismo G894T do gene da enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS3)..	75
Tabela 9	Interação genética-atividade física: comparação da prevalência de riscos e morbidades coronarianas em idosos suficientemente ativos (SA) com diferentes genótipos do polimorfismo NOS3.....	76
Tabela 10	Descrição da razão de chance (<i>Odds Ratio</i>) obtida na análise da associação do efeito de dose o polimorfismo da NOS3 (GG x TT+GT e TT x GG+GT) com riscos e morbidades coronarianas em idosos suficientemente ativos (SA).....	76
Tabela 11	Interação genética-atividade física: comparação da prevalência de riscos e morbidades coronarianas em idosos insuficientemente ativos (IA) com diferentes genótipos do polimorfismo NOS3.....	77
Tabela 12	Freqüências genótípicas do polimorfismo G894T.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS

AVC	Acidente Vaso Cerebral
CT	Colesterol Total
DAC	Doença Arterial Coronariana
DCbV	Doença Cérebro Vascular
DCV	Doença Cardiovascular
DE	Disfunção Endotelial
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
EROx	Espécies Reativas de Oxigênio
FAD	Flavina Adenina Dinucleotídeo
FMN	Flavina Mononucleotídeo
FRDE	Fator Relaxador do Endotélio
GMPc	Guanosina Monofosfato Cíclica
H ₄ B	Tetraidro-biopterina
HALE	<i>Healthy Life Expectancy</i>
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>) (Lipoproteína de Alta Densidade)
HSP	<i>Heat-shock Proteins</i>
IA	Insuficientemente Ativos
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IMC	Índice de Massa Corporal
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
IPAQ	<i>International Physical Activity Questionnaire</i>
kDA	Quilo Daltons
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de baixa densidade)
L-NMMA	NG-monometil-L-Arginina
METs	Estimativa Energética Despendida em Atividades Físicas
mRNA	Ácido Ribonucléico Mensageiro

NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
nNOS	Óxido Nítrico Sintase Neural
NO	Óxido Nítrico
NOS1	Óxido Nítrico Sintase Neural
NOS2	Óxido Nítrico Sintase Induzível
NOS3	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
SA	Suficientemente Ativos
SM	Síndrome Metabólica
SNC	Sistema Nervoso Central
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade)
VO ₂ máx	Volume Máximo de Oxigênio Consumido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1	ENVELHECIMENTO POPULACIONAL, DOENÇAS CARDIOVASCULARES E SEUS FATORES DE RISCO	20
2.2	ATIVIDADE FÍSICA E DOENÇAS CARDIOVASCULARES	25
2.3	ÓXIDO NÍTRICO: ASPECTOS BIOFISIOLÓGICOS E CLÍNICOS	30
2.4	ÓXIDO NÍTRICO E ESTRESSE OXIDATIVO	41
2.5	ÓXIDO NÍTRICO E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES	43
2.5.1	Dislipidemia (hipercolesterolemia)	44
2.5.2	Diabetes mellitus	45
2.5.3	Obesidade	46
2.5.4	Hipertensão	46
2.6	ÓXIDO NÍTRICO E ATIVIDADE FÍSICA.....	48
2.6.1	Polimorfismos genéticos da Enzima Óxido Nítrico Sintase	51
3	OBJETIVOS	52
3.1	OBJETIVO GERAL	54
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	54
4	METODOLOGIA	55
4.1	DELINEAMENTO	55
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	55
4.3	POPULAÇÃO, AMOSTRA E ORIGEM DOS DADOS	56
4.4	INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO	57
4.5	CARACTERIZAÇÃO GERAL DOS INDICADORES DO MUNICÍPIO DE GRAVATAÍ	58
4.5.1	Indicadores demográficos	59
4.5.2	Indicadores epidemiológicos de mortalidade	59
4.5.3	Demais indicadores de saúde	60
4.6	DESCRIÇÃO DAS PRINCIPAIS VARIÁVEIS INVESTIGADAS NO ESTUDO.....	60

4.6.1	Variáveis socioeconômicas e culturais	60
4.6.2	Variáveis antropométricas e fisiológicas relacionadas com obesidade e hipertensão arterial sistêmica	60
4.6.3	Variáveis associadas à dislipidemia	62
4.6.4	Variável associada a diabetes do tipo 2	63
4.7	CLASSIFICAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA	64
4.8	VARIÁVEIS ASSOCIADAS À GENOTIPAGEM MOLECULAR	66
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	67
4.10	ÉTICA	67
5	RESULTADOS	68
5.1	CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E BIOLÓGICA DA AMOSTRA	68
5.2	ANÁLISE DO EFEITO DA INTERAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO G894T DA NOS3 E NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA DE IDOSOS SOBRE A PREVALÊNCIA DE RISCOS E MORBIDADES CORONARIANAS.....	74
6	DISCUSSÃO	78
6.1	RELEVÂNCIA DO ESTUDO	78
6.2	FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES E SUA ASSOCIAÇÃO COM ATIVIDADE FÍSICA	79
6.3	ESTUDOS SOBRE O POLIMORFISMO G894T DA NOS3 ASSOCIADOS À ATIVIDADE FÍSICA	85
6.4	O POLIMORFISMO G894T DA NOS3 E OS FATORES DE RISCO E MORBIDADES CARDIOVASCULARES	88
6.5	EXISTE INFLUÊNCIA DE UMA POSSÍVEL INTERAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO G894T DA NOS3 E ATIVIDADE FÍSICA EM FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES DE IDOSOS?	91
6.6	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	93
6.7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	95
7	CONCLUSÃO	96
	REFERÊNCIAS	97
	APÊNDICE A – EVOLUÇÃO NO NÚMERO DE TRABALHOS PUBLICADOS REALIZADOS EM IDOSOS (>65 ANOS), NO PERÍODO DE 1980 A 2005 ASSOCIANDO ATIVIDADE FÍSICA E DOENÇAS GERIÁTRICAS A PARTIR DA BASE DE DADOS DO MEDLINE	116
	APÊNDICE B – AUTORIZAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO DO BANCO DE DADOS DO PROJETO GÊNESIS-GRAVATAI.....	117

APÊNDICE C – COMPARAÇÃO DA EVOLUÇÃO DA PIRÂMIDE ETÁRIA DO BRASIL, RIO GRANDE DO SUL E GRAVATAÍ NOS ANOS DE 1980 E 2000	118
APÊNDICE D – EVOLUÇÃO DA MORTALIDADE PROPORCIONAL (%) POR FAIXA ETÁRIA SEGUNDO O GRUPO DE CAUSAS (CID10)..	119
APÊNDICE E – DEMAIS INDICADORES DE SAÚDE DO MUNICÍPIO DE GRAVATAÍ-RS. ANO: 2002	120
APÊNDICE F – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	121
APÊNDICE G – OFÍCIO 381/06: APROVAÇÃO DO CEP-PUCRS.....	124
ANEXO A – QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – IPAQ: VERSÃO CURTA	125

1 INTRODUÇÃO

Doenças cardiovasculares são a principal causa de morbi-mortalidade no mundo ocidental. Por tal motivo, estudos sobre os mecanismos fisiopatológicos envolvidos com a sua etiologia são de grande relevância, incluindo a identificação e regulação de moléculas-chave como é o caso do óxido nítrico (NO).

A relevância da regulação do NO no sistema cardiovascular tem motivado um número cada vez mais expressivo de pesquisadores a investigar se os polimorfismos genéticos da enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS3 ou eNOS), que é a enzima que catalisa a sua síntese no endotélio vascular, estariam associados a doenças cardiovasculares. Entre estes polimorfismos está o G894T localizado no exon 7 do gene da NOS3, cujo alelo T leva à produção sub-ótima dos níveis de NO. A relevância desta condição é justificada porque uma das características primárias relacionadas com a disfunção endotelial é a queda nos níveis de produção de NO.

Apesar da plausibilidade biológica da associação entre o polimorfismo, da NOS3 e o aumento da suscetibilidade a aterosclerose e por conseqüência de doenças cardiovasculares nem todos os estudos têm observado associação positiva entre o polimorfismo e tais morbidades. Esta controvérsia nos resultados leva à sugestão da existência de fatores intervenientes no processo, sejam estes genéticos ou ambientais.

Como a molécula de NO é pleiotrópica, ou seja, possui múltiplas funções, além da modulação da vasodilatação, como é o caso do seu papel na inibição da agregação plaquetária, função imune, crescimento celular, neurotransmissão, regulação metabólica, sua regulação é complexa e possivelmente influenciável tanto por fatores intrínsecos ao organismo quanto por fatores extrínsecos.

Possivelmente um dos fatores que pode atuar sobre a modulação da óxido nítrico sintase (NOS), e por conseqüência na produção de NO, é a atividade física. Esta afirmação está baseada em estudos epidemiológicos que mostram que a atividade física regular e moderada possui efeitos benéficos ao sistema

cardiovascular, incluindo a restauração da disfunção do sistema vascular endotelial via aumento na produção de NO.

Cabe salientar que nos seres humanos, além da expressão da NOS3 na célula endotelial a NOS3 é encontrada na musculatura lisa, cardíaca, no trato reprodutivo de homens e mulheres e no cérebro. Adicionalmente a NOS neural (NOS1 ou nNOS) é expressa no cérebro, medula espinhal, gânglios simpáticos, nervos periféricos, pâncreas, células epiteliais do estômago, pulmões, útero e músculos esqueléticos.

A partir de uma perspectiva funcional o benefício da atividade física pode se estender ao controle hemodinâmico e metabólico causado pelo exercício. As adaptações decorrentes deste processo podem contribuir nos efeitos preventivos e terapêuticos associados à atividade física que são amplamente descritos na literatura.

Com base neste quadro um questionamento em aberto é se a interação entre atividade física de idosos, com a saúde controlada e socialmente ativos, que, portanto, já possuem um estilo de vida bem estabelecido, poderia estar influenciando a prevalência de fatores de riscos clássicos e doenças cardiovasculares (angina pectoris e infarto agudo do miocárdio (IAM)).

O estudo aqui apresentado se propôs a contribuir na resposta deste questionamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ENVELHECIMENTO POPULACIONAL, DOENÇAS CARDIOVASCULARES E SEUS FATORES DE RISCO

A melhoria das condições de vida da população que ocorreu no século XX tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento trouxe como consequência epidemiológica modificações na prevalência e incidência de morbidades crônicas não-transmissíveis como é o caso das doenças cardiovasculares. As doenças crônicas figuram como principal causa de mortalidade e incapacidade no mundo, sendo responsáveis por 59% dos 56,5 milhões de óbitos anuais. São os chamados agravos não-transmissíveis.^{1,2}

O aumento da morbi-mortalidade por doenças cardiovasculares deve-se, em grande parte, ao aumento no número de idosos na população devido a queda da mortalidade infantil e da fecundidade, o que levou à sobrevivência de um número cada vez maior de pessoas. Assim, hoje a expectativa de vida média do brasileiro do sexo masculino é de 65,7 anos e do sexo feminino de 72,3 anos.³ Porém, como a expectativa de vida é uma estimativa puramente demográfica, a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2004) criou um novo indicador denominado Expectativa de Vida Saudável da População (em Inglês, *Healthy Life Expectancy*, HALE)⁴ que é baseado na expectativa de vida, mas também inclui um ajuste associado às condições de saúde. Este indicador mede o número equivalente de anos em que se espera que um indivíduo permaneça sem nenhum tipo de doença. No Brasil, o HALE para o sexo masculino é de 57,2 anos de idade e do sexo feminino de 62,4 anos de idade. Ou seja, estima-se que 50% dos indivíduos com estas idades já apresentem pelo menos um tipo de doença crônica não-transmissível.

No caso, uma grande parcela de morbidades que estão associadas ao índice HALE estão relacionadas de modo direto ou indireto com o risco de doenças cardiovasculares (DCVs), como a hipertensão e a diabetes do tipo 2.

Hoje, estima-se que as doenças cardiovasculares causem 16,7 milhões de mortes em todo o mundo a cada ano, ou seja, 29,2% do total global de mortes, destas, 7,2 milhões são devido à doença cardíaca isquêmica, 5,5 milhões a doença cérebro-vascular e ainda 3,9 milhões por hipertensão ou outras doenças cardíacas. Muitos dos riscos primários das doenças cardiovasculares, tais como, dieta pouco saudável, inatividade física e tabagismo podem ser facilmente combatidos. O simples acúmulo destes hábitos pouco saudáveis mata mais de 12 milhões de pessoas a cada ano, segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde.⁵

Além disto, aumenta em muito a carga mórbida nos indivíduos por apresentar um alto potencial de causar incapacidade, como as seqüelas de infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca, AVC, amputações de membros inferiores por necrose, etc.⁵

Projeções para o ano 2020 estimam que as DCVs permaneçam como causa principal de mortalidade e incapacidade, sendo que atualmente, as regiões em desenvolvimento já contribuem mais marcadamente sobre o ônus da DCV que as desenvolvidas.⁶ Pelo grande significado epidemiológico que as DCVs passaram a ter, principalmente neste último século, e por se tratar de doenças com etiologia multifatorial, a identificação de fatores de riscos cardiovasculares começou a ser feita a partir da implementação do estudo longitudinal de Framingham há mais de 55 anos, nos Estados Unidos. Como pontua Polanczyk:⁷

Parece inconcebível, mas antes do estudo de Framingham, a maioria dos médicos acreditava que aterosclerose era um processo de envelhecimento inevitável, a hipertensão arterial um resultante fisiológico deste processo que auxiliava o coração a bombear o sangue pelas artérias com lúmen reduzido. (p. 199).

Framingham deu origem a mais de 1.000 publicações ao longo das últimas décadas, para um entendimento detalhado e aprofundado das características individuais e ambientais relacionadas com maior probabilidade de doença cardíaca, estudos estes que confirmaram a importância do que hoje são denominados fatores de risco convencionais ou clássicos para doenças cardiovasculares.

Estes fatores de risco, extrínsecos ou intrínsecos, são conhecidos e correntemente utilizados em programas de promoção de saúde e prevenção das DCVs como:^{8,9,10} (1) fatores hereditários, que são identificados quando o indivíduo

possui familiares (pais ou irmãos) com doenças cardiovasculares em idade igual ou menor que 55 anos no caso dos parentes masculinos e com idade igual ou menor a 60 anos caso forem do gênero feminino. (2) o gênero também é um fator de risco reconhecido, uma vez que indivíduos do sexo masculino são mais suscetíveis às doenças cardiovasculares em relação às mulheres na fase fértil. Após a menopausa ocorre aumento de doenças cardíacas nas mulheres, que passam a ter um risco equivalente ao dos homens. (3) a idade também é um fator de risco importante, visto que doenças cardiovasculares são mais prevalentes em indivíduos com idade \geq 50-60 anos; (4) etnia também está associada a doenças cardiovasculares pela ocorrência de fatores de riscos preponderantes em uma etnia em relação à outra. No caso da etnia africana existe um risco elevado de ocorrência de hipertensão arterial sistêmica em relação à caucasiana. Estudos recentes mostram também que grupos latinos (por exemplo, mexicanos) possuem um menor risco de doença hipertensiva do que negros e caucasianos. Por outro lado possuem mais risco de apresentarem hipercolesterolemia, diabetes mellitus tipo 2 e obesidade;¹¹ (5) tabagismo implicado na gênese da aterosclerose, especialmente quando associada a outros fatores de risco como a hipertensão e as doenças coronarianas e cérebro-vasculares; (6) a hipertensão arterial sistêmica é um dos grandes fatores de risco de doenças cardiovasculares, ocorrendo aumento da sua prevalência associada ao estilo de vida e a própria idade do indivíduo; (7) dislipidemias, principalmente hipercolesterolemia também são conhecidas como fatores de risco cardiovascular e seu controle é de extrema importância, principalmente para diminuir eventos ateroscleróticos. É importante ressaltar que o colesterol é transportado no sangue por proteínas com afinidade às gorduras, as lipoproteínas. Elas podem ser de dois tipos, as de baixa densidade, também chamadas de VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) e LDL (*Low Density Lipoprotein*) e as de alta densidade, também chamadas de HDL (*High Density Lipoprotein*). Existe uma forte associação positiva entre as doenças coronárias e o LDL e uma relação inversamente proporcional entre estas doenças e o HDL; (8) a diabetes mellitus tipo 2 também é um grande fator de risco para DCVs em função da hiperglicemia. Esse aumento ocorre porque a insulina, o hormônio que atua na absorção da glicose pelas células (transporte da glicose para dentro da célula), é produzido de forma insuficiente, não é produzido ou não funciona de forma correta. Indivíduos diabéticos do tipo 2 possuem um risco maior de doença aterosclerótica, incluindo doença coronariana, acidente vascular cerebral e doença

vascular periférica; (9) o excesso de peso (obesidade) também está associado ao aumento do risco de DCVs. A obesidade exige um maior esforço cardíaco além de estar correlacionada com a etiologia de outros fatores de risco com destaque a hipertensão arterial sistêmica, hipercolesterolemia e diabetes do tipo 2. A obesidade ainda apresenta algumas características que são importantes para a sua repercussão e seus riscos dependendo do segmento corporal em que ocorre o acúmulo do tecido adiposo. Assim a obesidade pode ser classificada em: (i) difusa ou generalizada; (ii) obesidade andróide ou troncular (centrípeta) onde o paciente apresenta uma forma corporal similar à forma de uma “maçã”. Este tipo de obesidade está mais relacionado com deposição de gordura visceral e apresenta uma forte associação com DCVs e outros fatores de risco; (iii) obesidade ginecóide na qual a deposição de gordura localiza-se no quadril fazendo com que a estrutura corporal fique semelhante a uma “pêra”. Este tipo de obesidade está mais associado ao risco de artrose e doença arterial periférica; (10) sedentarismo também é um fator de risco cardiovascular de grande relevância. Estudos longitudinais desenvolvidos principalmente a partir da década de 50 acabaram por descobrir que fatores relacionados ao estilo de vida da população poderiam representar risco para o desenvolvimento destas doenças. Entre estes, o estilo de vida sedentário é hoje considerado risco para muitas morbidades associadas ao envelhecimento como é o caso das doenças cardiovasculares, câncer de mama e próstata, depressão, osteoporose assim como parece ser risco de mortalidade.¹²

Como os principais fatores de risco podem ser intensificados ou atenuados pela interação com outros fatores genético-ambientais, estudos epidemiológicos de populações diferenciadas são de grande relevância. Até recentemente os dados epidemiológicos de referência utilizados no Brasil eram os norte-americanos ou provenientes da Europa ocidental. Entretanto, nestes últimos anos estudos populacionais têm permitido a construção de um panorama epidemiológico cardiovascular brasileiro. O interessante é que foram identificadas diferenças em relação à população americana, que merecem ser comentadas.

Estudos brasileiros sobre o padrão de mortalidade por DCVs mostraram que os coeficientes de mortalidade por IAM e acidente vaso cerebral (AVC), específicos por idade, em regiões metropolitanas do Brasil, apresentam perfis de risco diferentes

de outros países. Cerca de 50% dos óbitos masculinos por doença arterial coronariana (DAC) ocorrem na faixa etária abaixo de 65 anos, enquanto em outros países (Estados Unidos, Cuba e Inglaterra) essa proporção encontra-se em torno de 25%.⁶

Investigação conduzida no município de São Paulo observou que ainda que tenha ocorrido declínio da mortalidade por DAC e AVC a partir de meados da década de 70, as DCVs, relacionadas à aterosclerose, continuam a ser o principal grupo de causas de óbito no Estado, como ocorre também nos países desenvolvidos.¹³

Deste modo como os fatores de risco para DCVs também provêm de estudos realizados em países desenvolvidos não seria totalmente seguro, nem perfeitamente aceitável, fazer extrapolações para a população brasileira dos resultados obtidos primariamente nesses países. Com base nesta premissa Avezum et al.¹⁴ realizaram um estudo para identificar fatores de risco associados com IAM com as respectivas forças de associação, na região metropolitana de São Paulo. O estudo incluiu 271 casos e 282 controles provenientes de 12 hospitais. Os autores verificaram que o tabagismo, relação cintura-quadril, antecedentes de hipertensão arterial e de diabetes, história familiar de insuficiência coronariana, níveis séricos de LDL-colesterol e de HDL-colesterol encontram-se independentemente associados com IAM na região metropolitana de São Paulo.

Como foi salientado anteriormente, sendo as DCVs de origem multifatorial, ainda se faz necessário uma quantidade maior de estudos que busquem identificar outros fatores de risco ou mesmo variáveis intervenientes nos fatores de risco clássicos. É claro que, considerando os fatores de risco convencionais, investigações recentes sugerem que os mesmos estejam presentes entre 80-90% dos pacientes afetados, destacando a importância do controle dos mesmos em nível de saúde coletiva.¹⁵

Um dos fatores de risco que parece ser modulado pela presença de outros fatores é a atividade física. Considerando o estudo de Avezum et al.¹⁴ a atividade física não foi observada como um fator de risco independente para IAM. Entretanto os próprios autores comentam que:

Existe uma plausibilidade biológica para que se possa aguardar um efeito protetor da atividade física contra o IAM. Além disso, existe grande potencial para redução do risco por DCV naqueles inicialmente sedentários e que se tornam moderadamente ativos. Entretanto, aqueles que permanecem sedentários apresentam risco mais alto para DCV e mortalidade por todas as causas. Múltiplos estudos prospectivos publicados durante os últimos 35 anos demonstram relação forte, consistente e gradual entre atividade física de recreação e ocupacional, relatada pelos indivíduos e eventos cardiovasculares, mortalidade por todas as causas e mortalidade cardiovasculares.(p. 210).¹⁴

Deste modo, ainda que a atividade física pareça afetar e ser afetada por outros fatores em relação ao seu poder de risco ou proteção as DCVs, estudos sobre possíveis interações entre a atividade física e fatores genético-ambientais podem ser considerados relevantes.

Nestes termos, a seguir será apresentada uma breve revisão sobre atividade física e sua relação com DCVs.

2.2 ATIVIDADE FÍSICA E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

O sedentarismo é hoje um grande problema mundial de saúde.^{16,17} Entre as razões que levam à inatividade física encontra-se o próprio desconhecimento da população sobre os benefícios associados. Frequentemente atividade física e exercício físico são considerados como sinônimos. Entretanto, autores como Caspersen et al.¹⁸ consideram que atividade física diz respeito a qualquer tipo de movimento corporal produzido pela musculatura esquelética que resulte em gasto energético maior dos que os níveis de repouso. No caso o exercício físico seria toda a atividade física planejada, estruturada e repetitiva que tem como objetivo a melhoria e manutenção da aptidão física.

Em termos epidemiológicos, estudos adicionais também mostraram que a intensidade e a frequência da atividade física influencia a magnitude do efeito desta variável sobre as doenças.¹⁹

Um dos questionamentos levantados quando observações científicas apontaram para uma associação entre atividade física e saúde foi qual seria o motivo

para tal associação ocorrer tão fortemente. Hipóteses advindas de estudos arqueológicos, genéticos e evolutivos foram levantadas e hoje são aceitas pela maioria dos pesquisadores.

A partir de revisões publicadas sobre o tema algumas considerações podem ser destacadas. Registros históricos antigos encontrados na China há mais de 3000 anos, sugerem que a prevenção de doenças estaria relacionada com o estilo de vida. Este é um dos princípios gerais da filosofia chinesa, que até os dias de hoje centra atenção no *tai chi chuan*, que engloba um conjunto de exercícios relacionados com movimentos harmônicos. Na Índia também a dieta e a atividade física são conhecidas como princípios essenciais cotidianos para uma vida saudável. Neste caso, o *Ajur Veda*, que é uma coletânea de prescrições médicas transmitidas verbalmente desde 3000 anos a.C, levou ao desenvolvimento da filosofia do *yoga* que também engloba um número significativo de exercícios relacionados com a flexibilidade, alongamento e força corporal. O *yoga* também engloba exercícios de respiração e uma dieta adequada como sendo instrumentos que auxiliam no controle da mente e das emoções.²⁰

A atividade física também teve um papel muito importante nos povos greco-romanos, africanos e indígenas americanos. A visão grega da atividade física influenciou grandemente a cultura moderna ocidental. Os gregos acreditavam que o atletismo era o instrumento físico e espiritual para que o homem se equivalessse aos deuses. Entre os gregos, o reconhecimento de que a atividade física era importante para a saúde data de no mínimo cinco séculos antes de Cristo, como pode ser visto pela idéias preconizadas por Herodicus (480 a.C), Hipócrates (460-377 a.C) e Galeano (129-199 a.C). Ainda que Hipócrates seja considerado o pai da medicina, registros históricos sugerem que Herodicus já trabalhou muito com a idéia de que a saúde estava relacionada com a dieta e o exercício, e uniu nas suas ações a atividade física com as artes médicas daquela época.²⁰

Estes conceitos atravessaram épocas e também foram seguidos por uma série de cientistas e médicos do mundo ocidental até o século XX. Entre 1970 e metade da década de 90, estudos sobre treinamento físico conduzidos em indivíduos de meia idade, idosos e em pacientes com baixa capacidade funcional demonstraram uma melhora significativa na *performance* cardiorrespiratória e

benefícios relacionados com a saúde a partir de atividade física com intensidade moderada.^{21,22,23} Como resultado destes achados, muitas diretrizes médicas de diversos países recomendam que todos os adultos deveriam realizar atividade física moderada de 30 minutos ou mais, de preferência diariamente, em uma sessão acumulada ou com três seções distribuídas ao longo do dia de 10 minutos cada.²⁴ Esta orientação trouxe três grandes diferenças em relação às anteriores: (1^a) reduz a intensidade mínima do exercício inicial de 60% para 50% do consumo máximo de oxigênio em adultos saudáveis e para 40% em pessoas com baixa capacidade física; (2^a) aumenta a frequência do exercício de 3 vezes por semana para 5 a 7 dias na semana, dependendo da intensidade e duração da sessão e (3^a) inclui a opção do acúmulo de no mínimo 30 minutos por dia para múltiplas sessões de 10 minutos. Tais modificações visaram principalmente atingir o grande grupo de indivíduos sedentários que geralmente não gosta de realizar atividade física, mas que poderia se beneficiar, minimamente, de uma atividade física moderada.²⁴

Em termos de saúde cardiovascular, não existe necessidade de atividade física estruturada ou vigorosa. A maioria dos seus benefícios é obtida a partir de uma atividade física moderada. A quantidade e o tipo de atividade física necessária para prevenir DCVs e promover a saúde, pode ser variada desde que seja feita regularmente.²⁵

Apesar das evidências de que um estilo de vida ativo é importante para a saúde, a grande maioria das populações humanas não pratica atividades físicas regulares para obter os benefícios associados.^{26,27}

Em países em desenvolvimento esta condição parece ser similar a dos países desenvolvidos, entretanto ainda existem poucos dados oriundos destes primeiros. No Brasil, segundo Monteiro et al.²⁸ que avaliaram a atividade física na hora de lazer em duas regiões (sudeste e noroeste), o tempo despendido com algum tipo de atividade física ocorreu somente em 3,3% dos entrevistados (considerando como atividade física aquela realizada no mínimo por 30 minutos cinco ou mais vezes por semana).

Um estudo recente feito por Dias-da-Costa et al.²⁹ avaliou a prevalência de inatividade física em uma população adulta brasileira com idade entre 20 a 69 anos residente no sul do Brasil (Pelotas-RS) através da realização de um estudo

transversal de base populacional. Os autores avaliaram a prática da atividade física semanal e o gasto energético. A prevalência da inatividade física foi de 80,7% estando associada ao gênero (sexo feminino menos ativo), ao estado civil (pessoas que viviam com um companheiro eram mais inativas) e tabagismo. Já a escolaridade e o nível econômico apresentaram uma associação inversa com a inatividade física. Ou seja, quanto mais alto o nível educacional e econômico, mais ativos eram os sujeitos entrevistados. A partir da discussão dos resultados obtidos, os autores observaram que a prevalência descrita tendia a ser maior do que a observada em países desenvolvidos ainda que as variáveis associadas à inatividade física tenham sido similares.^{30 31}

Outra observação feita no estudo citado foi a diminuição no nível de atividade física com a idade. Tal resultado foi consistente com diversos trabalhos prévios descritos na literatura.^{32,33}

Um estilo de vida sedentário na fase jovem e sua manutenção ao longo do envelhecimento ou a diminuição da atividade física na velhice são dois aspectos que possuem uma grande influência no desenvolvimento de morbidades, principalmente na população idosa. Esta afirmativa origina-se de uma quantidade considerável de estudos realizados principalmente nos últimos 20 anos, como mostra a revisão feita no livro *Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General*.²⁵ Considerando idosos (>65 anos) foi realizada uma análise de publicações indexadas na base de dados do MEDLINE³⁴ entre 1980 a 2005 onde é possível demonstrar numericamente esta afirmativa (Apêndice A).

Em relação às doenças cardiovasculares o livro *Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General*²⁵ compilou e revisou os trinta e seis principais estudos que foram conduzidos sobre o tema entre 1953 a 1995. Segundo os autores os estudos publicados antes de 1978 predominantemente classificavam a atividade física pelo tipo de trabalho ou atividade ocupacional. Estudos posteriores usualmente passaram a definir o nível de atividade física a partir de recordatórios de atividades no tempo de lazer ou pela combinação deste tipo de atividade com a atividade ocupacional. Os estudos mais recentes também foram capazes de controlar estatisticamente muitas das potenciais variáveis de confusão como a idade, por exemplo. A maioria destes estudos foi realizada em homens com idades associadas

a risco cardiovascular (30 a 75 anos). Somente quatro estudos incluíram mulheres. Todos os estudos exceto um, foram de coorte e o tempo de seguimento variou entre 4 a 25 anos. Todos os estudos relacionaram um nível de atividade física estimada com o risco de ocorrência de DCVs (principalmente doenças coronarianas) ao longo do tempo de duração do estudo. Em um dos estudos que envolveram 23 anos de seguimento a redução do risco cardiovascular entre homens ativos foi grandemente diminuída quando foi feito ajuste simultâneo para os níveis de colesterol, índice de massa corporal (IMC), pressão arterial sistêmica (PAS) e diabetes, levando os autores a concluir que o efeito benéfico da atividade física no risco cardiovascular é provavelmente mediado pelo efeito benéfico da atividade física sobre estes fatores.³⁵

A diminuição da atividade física com a idade também é um problema sério de saúde pública, uma vez que muitos estudos têm demonstrado que a modificação de um estilo de vida sedentário para um ativo resulta em benefícios orgânicos em qualquer momento da vida do indivíduo como descreve Peel et al.³⁶ em sua revisão sobre determinantes comportamentais associados a um envelhecimento saudável e Groot et al. que revisaram resultados longitudinais do estudo europeu SENECA.³⁷

Estudo de coorte na Suécia (*Swedish Mammography Cohort*) que examinou se medidas antropométricas na fase jovem da vida (peso ao nascer e forma corporal aos 10 anos de idade) e fatores reprodutivos (idade da menarca, idade de nascimento do primeiro filho e número de filhos) poderiam estar associados com IMC, sobrepeso e obesidade a partir da fase pré-menopausa ou menopausa (49 a 83 anos) em 18109 mulheres saudáveis. Tanto as variáveis antropométricas quanto as reprodutivas foram comparadas com os indicadores antropométricos observados na última avaliação.³⁸ Neste estudo os autores verificaram que o peso na infância, a idade, quando nascimento do primeiro filho e a paridade estavam positivamente relacionados com obesidade e sobrepeso na fase adulta/idosas. Observaram também que esta relação era influenciada e poderia ser modificada pela escolha do estilo de vida adotado pela mulher. Ou seja, mulheres com maior número de filhos tiveram uma probabilidade maior de sobrepeso ou obesidade do que mulheres com um menor número de filhos. Entretanto, aquelas que na sua vida optaram pela realização de atividade física apresentaram uma diminuição de risco de sobrepeso e obesidade.³⁹

Assim, a atividade física parece exercer um efeito sistêmico sobre outros fatores de risco cardiovascular, e esta condição precisa ser ainda melhor compreendida se forem levados em conta fatores de risco cardiovascular emergentes incluindo polimorfismos de determinados genes. Por tal motivo, a seguir será feita uma breve revisão sobre a possível influência fisiológica da atividade física sobre alguns dos principais fatores de risco cardiovascular.

A provável ação fisiológica da atividade física com a diminuição dos fatores de risco cardiovascular deve acontecer via regulação de diversas substâncias corporais incluindo aquelas associadas ao metabolismo do colesterol, estresse oxidativo, resposta imunológica, hemodinâmica entre outras. Aqui é importante comentar que têm sido identificadas muitas moléculas, com efeito pleiotrópico que atuando em diversas rotas metabólicas acabam tendo um papel importante na manutenção da saúde do sistema cardiovascular.

Entre estas, o óxido nítrico (NO) possui um papel de destaque, o que justifica o volumoso montante de pesquisas básicas e clínicas que foram produzidas nesta última década sobre tal molécula. Entretanto, a interação entre a mesma e fatores protetores como é o caso da atividade física ainda não é bem conhecida. Por este motivo, estudos sobre tal tema necessitam ser conduzidos.

2.3 ÓXIDO NÍTRICO: ASPECTOS BIOFISIOLÓGICOS E CLÍNICOS

Organismos multicelulares complexos como os seres humanos necessitam de eficiência na distribuição de nutrientes e moléculas regulatórias e captação e eliminação de subprodutos ou compostos não desejáveis. Por este motivo o sistema cardiovascular destas espécies engloba diversas funções interativas e/ou compartilhadas que garantem a eficiência funcional e, por conseguinte a sobrevivência orgânica agregando também papéis funcionais adicionais como a termorregulação e a distribuição de moléculas sinalizadoras do corpo.

Dada a importância do sistema cardiovascular para o organismo, o acúmulo de disfunções causadas e causadoras de alterações morfo-fisiológicas e na

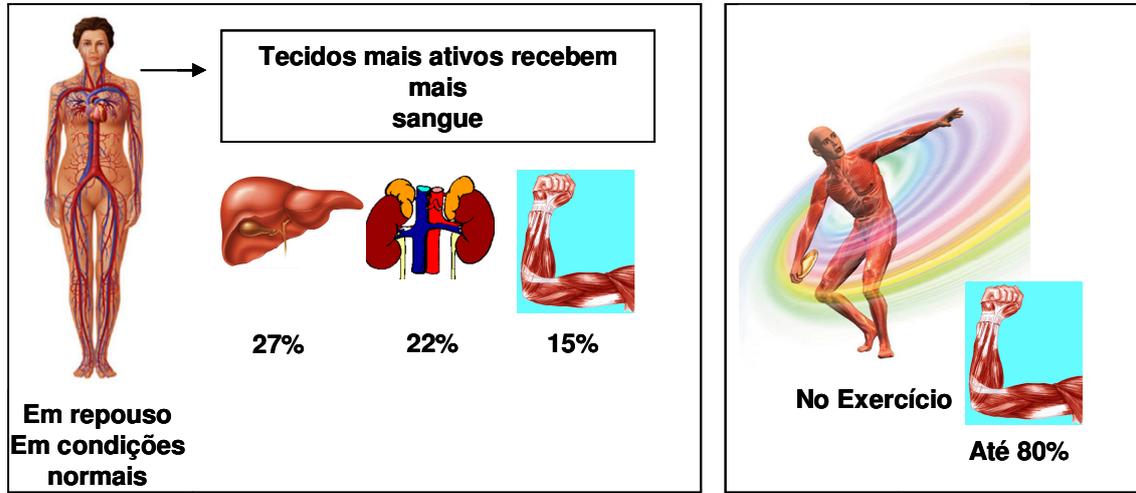
homeostasia corporal tem um efeito dramático, estando por trás de incapacidades e desencadeamento de estados mórbidos ou mesmo o óbito de muitos indivíduos. Esta afirmativa é ano a ano confirmada pelos dados epidemiológicos de países desenvolvidos e em desenvolvimento como o Brasil.²

Nestes termos, dada a natureza multifatorial da regulação da função cardiovascular e a necessidade de se produzir novos conhecimentos que levem ao aumento do entendimento da fisiopatologia cardíaca ou mesmo de intervenções medicamentosas e não-medicamentosas, um número muito grande de pesquisadores tem se dedicado a pesquisar e descobrir novas informações sobre a mecânica regulatória cardíaca. A Figura 1 mostra de modo esquemático aspectos gerais relacionados com a distribuição do sangue no corpo e que devem ser lembrados em estudos que investigam o sistema cardiovascular.⁴⁰

A auto-regulação da distribuição do sangue depende da função endotelial normal. Isto porque está diretamente relacionada com a pressão sangüínea (PA) que é a pressão exercida pelo sangue sobre as paredes vasculares. Alterações da PA são controladas por alterações específicas nas artérias e veias. A hipertensão arterial (HAS) é uma morbidade caracterizada pela elevação crônica da PA. Via de regra a redução da PA pode ser influenciada positivamente pela perda de peso, dieta adequada e exercício físico moderado. A HAS é responsável pelo aumento da morbidade e mortalidade cardiovascular, cujos principais eventos são o IAM e AVC.

O endotélio é um tecido amplamente distribuído no organismo que tem um peso aproximado de 1,5 kg. Está envolvido em múltiplas funções, sintetizando, metabolizando e liberando um número expressivo de substâncias que exercem efeitos de modo autócrino, parácrino e endócrino, participando diretamente do mecanismo de auto-regulação da dilatação dos vasos.⁴¹ Tal mecanismo é desencadeado quando ocorre aumento da velocidade do fluxo de sangue dentro dos vasos o que provoca atrito causado pela viscosidade sangüínea. Este fenômeno é denominado de “estresse por cisalhamento” (*shear stress*), uma vez que distorce mecanicamente as células endoteliais. Esta distorção mecânica desencadeia a liberação de substâncias entre as quais o NO. Isto porque, uma vez liberado ele difunde-se para as células da musculatura lisa induzindo o seu relaxamento, que tem como conseqüência a vasodilatação.

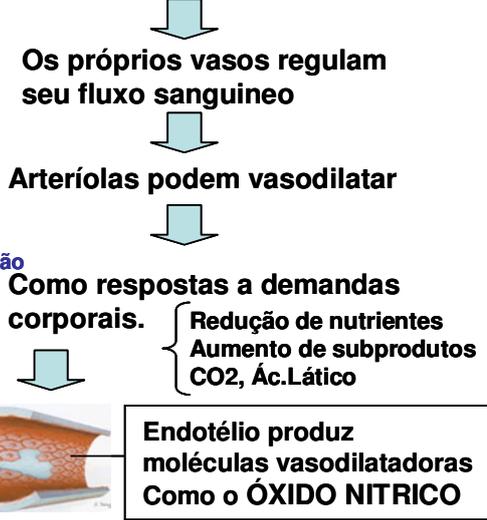
CONTROLE GERAL DA DISTRIBUIÇÃO DO SANGUE NO ORGANISMO



Controle Neural Extrínscico



Autorregulação



Relaxamento

Figura 1 - Esquema geral mostrando os dois principais mecanismos regulatórios do controle da distribuição do sangue no organismo e dentro do vaso. Destaca-se o papel de moléculas que modulam a vasodilatação como é o caso do óxido nítrico.

Dada a relevância da modulação da vasodilatação e vasoconstrição dos vasos sanguíneos as investigações nos últimos quinze anos orientadas para esta área oportunizaram a produção de conhecimentos importantes e também a descoberta do papel de moléculas não conhecidas, como foi o caso do NO, no final da década de 80.⁴⁰

O NO é uma molécula mediadora de muitas funções fisiológicas bem conhecidas. Adicionalmente, o seu papel na patogênese cardiovascular vem sendo progressivamente melhor entendido.⁴²

Ainda que o conhecimento sobre a natureza e as propriedades do NO tenha avançado aceleradamente nestas últimas décadas, o estudo desta molécula remonta ao século XIX, quando compostos de nitroglicerina eram utilizados no tratamento da angina pectoris. Mesmo não sabendo qual a ação fisiológica que a nitroglicerina exercia sobre o sistema cardiovascular era aceito que a sua utilização era eficaz e que de alguma forma esta substância relaxava o músculo vascular liso. Tal relaxamento permitia que os vasos se dilatassem e assim ocorria aumento no fluxo sanguíneo para o coração. Segundo a revisão de Alfieri,⁴³ mais de 100 anos se passaram e neste período ocorreu um acúmulo muito grande de experimentos e resultados até que se descobrisse o efeito do NO na fisiologia corporal. Entre os estudos que merecem destaque está a descoberta feita por Furchgott e Zawadzki⁴⁴ em 1980, de que o endotélio desempenhava um papel crucial na resposta vasodilatadora. Tais autores descobriram esta função endotelial a partir de experimentos que mostravam que a acetilcolina atuava promovendo a liberação de uma outra substância que foi denominada pelos pesquisadores de “fator relaxador derivado do endotélio” (FRDE). Esta descoberta fez com que diversos grupos de pesquisa se debruçassem na tarefa de identificar que molécula era esta.

Os três experimentos decisivos que levaram à identificação do NO como sendo um FRDE ocorrem de modo independente, por Ignarro et al.⁴⁵ na Universidade de Los Angeles, Furchgott et al.⁴⁶ na Universidade do Estado de Nova York e por Salvador Moncada et al.⁴⁷ nos Laboratórios *Wellcome Research* na Inglaterra.

Quimicamente o NO é uma molécula muito simples e pequena, gasosa, inorgânica, incolor, que possui sete elétrons de nitrogênio e oito de oxigênio, sendo que um deles está desemparelhado. Como consequência da sua configuração eletrônica, o oxigênio tem uma tendência forte em receber um elétron de cada vez, o que torna o NO uma molécula altamente reativa.

Moléculas com este tipo de configuração química são denominadas de Espécies Reativas de Oxigênio (EROx) ou radicais livres.

Até o final dos anos 80 o NO era considerado uma molécula poluidora do ar e potencialmente carcinogênica. Hoje é considerada uma molécula única por suas características como neurotransmissão e outras múltiplas funções orgânicas, conforme figura 2.



Figura 2 – Principais funções do Polimorfismo da Enzima Óxido Nítrico Sintase.

No sistema cardiovascular age principalmente como um fator de relaxamento endotelial na modulação da vasodilatação arterial; no sistema nervoso funciona como um neurotransmissor com papel relevante na modulação da aprendizagem e memória; no sistema reprodutivo masculino está envolvido com a fisiologia da ereção do pênis na presença de estímulo sexual^a; no sistema imune possui propriedades citotóxicas dado que macrófagos utilizam o NO para destruir microorganismos como bactérias, vírus, parasitas e tumores. No sistema respiratório os nervos da musculatura lisa bronquiolar liberam o NO como mediador do controle neurogênico da broncodilatação. Adicionalmente o NO participa da cascata da coagulação sanguínea (fibrinolítica e trombótica) possuindo propriedades anti-coagulantes que

^a Medicamentos como o Viagra produzido pela Pfizer reverte à impotência sexual através do estímulo ao aumento dos níveis de NO.

resultam em parte da inibição da adesão e agregação plaquetária. Por este motivo estudos têm mostrado que a deficiência de NO está associada à trombose arterial.^{48,43}

Devido a sua natureza gasosa, o NO tem propriedades diferentes de qualquer outro neurotransmissor. Como não pode ser armazenado no interior de vesículas intracelulares, quando é produzido conseqüentemente o NO escapa através das membranas agindo em outras células sem que haja necessidade de receptores específicos na superfície das mesmas. Portanto, como pontua Alfieri⁴³ se trata de uma molécula-sinal que pode ser liberada em qualquer parte e atuar sobre a mesma célula que o produziu ou mesmo em qualquer célula que esteja próxima e possa responder a sua ação.

Sua síntese é resultado da oxidação de um dos dois nitrogênios da molécula L-arginina que é convertida em L-citrulina liberando neste processo o NO (Figura 2).⁴⁷

A L-arginina é um aminoácido semi-essencial produzido no organismo em pequena quantidade e que necessita ser ingerido através da alimentação. Como existe necessidade constante da L-arginina esta molécula é novamente sintetizada a partir da citrulina nos túbulos proximais renais.

Muitas células são capazes de sintetizar NO que sempre necessita NADPH (nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato) e O₂ e a enzima óxido nítrico sintase (NOS). A estrutura e a função desta enzima foram melhor entendidas a partir de estudos de clonagem molecular. Investigações também mostraram que existem três isoformas de NOS que são conhecidas: a NOS1 isolada inicialmente a partir do cérebro e cerebelo, a NOS2 inicialmente isolada de macrófagos de roedores e hepatócitos e condrócitos de seres humanos e a NOS3 inicialmente isolada do endotélio vascular.

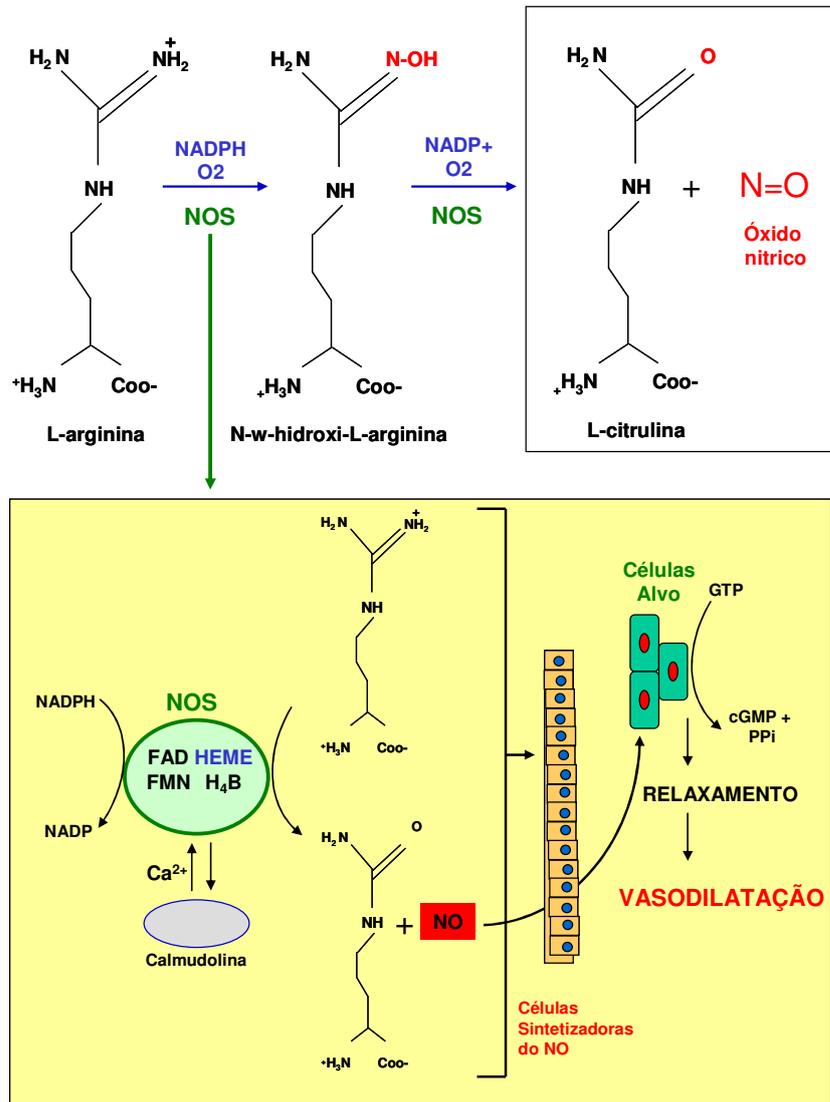


Figura 3 - Biossíntese do Óxido Nítrico (NO). A molécula L-arginina dá origem ao NO através de dois passos catalisados pela mesma enzima óxido nítrico sintase (NOS). No primeiro ocorre a oxidação de dois elétrons transformando a L-arginina em N-w-hidroxi-L-arginina e no segundo em que esta molécula é convertida em L-citrulina e NO. Nos dois passos existe necessidade de cálcio e da calmodulina que agem como ativadores da reação. No primeiro passo o NADPH (Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) é oxidado em NADP⁺ e o oxigênio atua como um co-substrato para esta reação. Outras moléculas como a FAD, FMN e a (BH₄) atuam como co-fatores. No final o NO é produzido e difunde-se através das células levando ao relaxamento das fibras musculares e à vasodilatação dos vasos.

Todas estas isoformas possuem uma estrutura química com dois domínios: uma parte N-terminal (amino-terminal) que contém uma molécula H₄B (tetraidro-biopterina), uma heme e sítios de ligação para a L-arginina. A outra parte C-terminal (carboxi-terminal) possui posições de reconhecimento para o NADPH tanto quanto para o FMN (flavina mononucleotídeo) e o FAD (flavina adenina dinucleotídeo). Isto permite que a enzima ligue-se às moléculas-chave necessárias à síntese do NO. A

ativação da NOS ocorre quando existe aumento dos níveis de cálcio via ação da calmodulina.⁴⁹

Após a sua produção pelas células endoteliais, a NOS3 difunde-se para as células musculares lisas ativando uma rota de segundo mensageiro via molécula guanosina monofosfato cíclica (GMPc) causando relaxamento da parede vascular e por conseqüência vasodilatação.

Isto ocorre porque as células musculares lisas contêm uma enzima denominada fosfodiesterase V, que atua especificamente na molécula GMPc. O NO ativa uma proteína quinase dependente de GMPc que leva à extrusão do cálcio do citoplasma por meio de uma bomba cálcio/magnésio ATPase, que tem por conseqüência o relaxamento do músculo. Assim, drogas farmacológicas nitrovasodilatadoras atuam de modo similar já que agora se sabe que são metabolizadas as moléculas que formam NO produzindo assim os eventos que levam à vasodilatação.⁵⁰

Um aspecto importante no descobrimento das funções do NO foram resultados que mostraram que substâncias análogas a L-arginina atuam como inibidores específicos e competitivos da NOS. O primeiro composto com estas propriedades que foi identificado foi o NG-monometil-L-arginina (L-NMMA). Este composto passou a ser utilizado em pesquisas para se observar ações citotóxicas dos macrófagos ativados muito antes da descoberta de que era o NO que ativava este processo imunológico.⁵¹

Uma porção significativa do NO sintetizado também se difunde para o sangue impedindo a adesão e agregação plaquetária. Finalmente as moléculas de NO são capturadas pela hemoglobina que está dentro das hemácias sendo oxidadas, o que gera a formação de nitritos que podem ser excretados pelo corpo. Hoje se aceita que praticamente todos os nitratos e nitritos plasmáticos ou urinários do ser humano derivam da rota L-arginina/NO devendo-se ter precaução na hora da sua medição laboratorial, pois a dieta e estados infecciosos ou inflamatórios podem modificar os valores observados.⁵²

Uma vez que as enzimas NOS são as responsáveis pela produção do NO, sua regulação também é de relevância na função do NO. Por este motivo, estudar a fisiologia do NO significa estudar a estrutura e função da NOS.

Após a clonagem da primeira NOS em 1991 foi feito o mapeamento deste gene no cromossomo 12 (12q-12-q24), em 1992. Este gene era o da NOS1. Posteriormente a NOS2 foi mapeada no cromossomo 17 (17q11.2) e a NOS3 no cromossomo 7 (7q35-q36). Estudos adicionais mostraram, que existe somente uma única cópia dos genes NOS1 e NOS3, enquanto que a NOS2 (óxido nítrico sintase induzível) possui várias seqüências no genoma que são chamadas NOS2A, NOS2B e NOS2C.⁵³

As isoformas da NOS possuem algumas diferenças estruturais como o seu peso molecular (que varia de 130 a 160 kDA), e quanto à forma de ativação e a capacidade de síntese do NO.⁵² No caso da NOS3, que é a enzima de maior interesse no presente estudo, o NO é produzido de modo contínuo em condições basais. A força de cisalhamento (*shear-stress*) que significa pressão tangencial exercida pelo sangue nas paredes dos vasos, induz o aumento da produção de NO. Este mecanismo que induz a liberação de NO é complexo e envolve: (1) iniciação extremamente rápida via ativação de canais iônicos na membrana celular; (2) eventos subseqüentes relacionados com rotas sinalizadoras de ativação tais como a fosforilação da NOS3 e a expressão aumentada tanto desta enzima quanto do seu mRNA. Estes eventos complexos permitem uma resposta rápida e curta que leva a vasodilatação. O NO produzido também é liberado no lúmen sendo transportado pelo sangue. Neste local atua em diversos mecanismos: como um potente inibidor da adesão e agregação plaquetária na parede vascular, inibindo a adesão de leucócitos ao endotélio vascular e a proliferação de células da musculatura lisa da parede vascular. Adicionalmente regula a pressão sangüínea e a contratibilidade do músculo cardíaco.

A produção de NO pela NOS1 ocorre duas vezes mais rápida do que pela NOS3. Entretanto, a liberação da NOS3 é significativamente mais veloz do que a NOS1. Tanto a NOS1 quanto a NOS3 são enzimas constitutivas uma vez que são continuamente produzidas pelas células. Já a NOS2 é uma enzima induzível, uma vez que sua produção ocorre de forma pulsátil.

Artérias e arteríolas produzem mais NO do que veias e vênulas, sendo que a vasodilatação provocada pelo atrito endotelial (*shear-stress*) é maior em artérias do que em arteríolas e vasos resistentes. Nas artérias, porém não nas veias, há liberação contínua de NO, mantendo o tônus dilatador.⁵⁴

Em condições fisiológicas, a formação de NO pode estar acima dos níveis basais quando há aumento do fluxo sanguíneo e o contato entre sangue e parede está facilitado. O aumento no fluxo provoca relaxamento nas células musculares lisas e dilatação do vaso. A tendência das plaquetas em se aderir à parede vascular, que poderia ser aumentada também é neutralizada pela elevada formação de NO.⁵⁴

Em indivíduos hígidos, há tônus vasodilatador moderado e constante, causado pelo NO endotelial se difundindo para as células da musculatura lisa vascular, a redução na síntese de NO resulta em vasoconstrição. A baixa formação de NO (em várias doenças vasculares) reduz a perfusão tecidual e promove a formação de trombo, enquanto a alta formação de NO (patológico) produz vasodilatação pronunciada e choque, com a redução da atividade plaquetária a homeostase fica prejudicada.⁵⁵

Ainda que a NOS3 seja uma enzima constitutiva das células endoteliais uma quantidade pequena de NOS2 também está presente nas células musculares lisas. Sendo assim, a ativação crônica das células endoteliais pode aumentar a síntese da NOS2 a fim de garantir a eficiência da vasodilatação. Por exemplo, o treinamento físico crônico fará com que exista um fluxo sanguíneo elevado que age como um estímulo à expressão da NOS3.⁵⁵

A NOS3 é uma enzima que possui um sítio de miristilação que a torna capaz de se ligar a um ácido graxo. Esta propriedade permite que a enzima se ligue à membrana plasmática das células, o que não ocorre com as outras isoformas que não possuem este braço lipídico. Acredita-se que a associação da NOS3 com a membrana faz com que o NO formado fique mais próximo do local de ação e por conseqüência se difunda mais rapidamente tanto para o sangue quanto para o músculo vascular liso adjacente. Como foi comentado anteriormente o NO e outros fatores endoteliais são produzidos de modo contínuo e liberados em um nível “basal”. Entretanto, a liberação do NO pode ser incrementada na presença de

moléculas estimuladoras como é o caso da bradicinina, serotonina e norepinefrina. Além disto, a produção do NO pode ser estimulada pelo aumento da força de cisalhamento em decorrência do aumento da velocidade do fluxo sanguíneo dentro do vaso ou por outros estímulos como a realização de exercício, que induz mudanças agudas e crônicas na produção e liberação de NO.⁵⁶

A NOS3 também possui moléculas protéicas que a regulam negativamente sendo a principal a calveolina-I. A calveolina-I pode servir como uma molécula que se liga ao colesterol levando esta molécula do retículo endoplasmático liso ou do aparelho de Golgi, onde é armazenada, para a membrana plasmática. Adicionalmente a calveolina-I tem a capacidade de interagir diretamente com outras proteínas intracelulares. Estudos *in vivo* sugerem ser a calveolina-I um potente inibidor da NOS3. Além disto, esta molécula parece bloquear processos inflamatórios via influência na permeabilidade vascular. Estudos mais recentes têm sugerido que a calveolina-I bloqueia a permeabilidade microvascular em tumores.^{57,58} Investigações também têm sugerido que a interação calveolina-I/NOS3 pode ser alterada por doenças como a aterosclerose, diabetes e cirrose.⁵⁸ A NOS3 também pode ser regulada pela interação com proteínas de choque térmico (*Heat-shock proteins*, HSP) como a HSP-90.

Uma vez que a NOS3 é um regulador crítico do tônus vasomotor estudos mostram que disfunção nesta enzima está associada tanto com hipertensão quanto com aterosclerose. Estas duas doenças estão fortemente associadas, ainda que os mecanismos de interação das mesmas não sejam bem conhecidos.⁵⁹

O endotélio tem importante participação na conservação da homeostasia vascular, mediante a secreção e liberação de substâncias vasoativas, em especial o NO. Quando existe alteração na sua estrutura ou função o mesmo se torna incapaz ou parcialmente incapaz de responder de forma fisiológica aos diferentes estímulos que levam à necessidade da modulação da dilatação dos vasos.

Este fenômeno é genericamente denominado de disfunção endotelial (DE) que representa a perda da capacidade do endotélio de modular o comportamento fisiológico vascular. A DE é um episódio precoce em morbidades críticas como a aterosclerose, precedendo a formação da placa de ateroma. Cabe ressaltar que a

aterosclerose é uma enfermidade sistêmica diretamente relacionada com DE periférica⁶⁰ cuja etiologia relaciona-se com interações complexas entre fatores genéticos e ambientais sendo a causa primária da doença cardíaca e o AVC nas sociedades ocidentais.⁶¹

Por este motivo contemporaneamente se considera que a saúde vascular endotelial exerce um efeito ateroprotetor via seus mediadores vasoativos como as prostaglandinas, fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e o próprio NO que é aqui objeto de estudo.⁶¹

Por outro lado também já existe um conjunto de evidências de que o envelhecimento endotelial expõe este tecido a danos causados pela própria pressão arterial (PA), concentrações aumentadas de colesterol, glicose, homocisteína e outros produtos da resposta inflamatória que também pode levar a um estado de disfunção endotelial associada à velhice.^{61,62}

Estudos mostram que a perda ou redução da biodisponibilidade do NO causada pela DE está diretamente associada ao desenvolvimento da aterosclerose.⁶²

A idéia de que o NO é um fator anti-aterogênico tem sido suportada por alguns estudos experimentais que inibiram a longo termo a NOS3. Entretanto, a DE também pode estar relacionada com a função da acetilcolina no vaso-relaxamento. Estudos sobre esta questão sugerem que existe disfunção endotelial seletiva que pode estar ligada à rota NO-L-arginina ou a outras rotas associadas a auto-regulação dos vasos.⁶³

2.4 ÓXIDO NÍTRICO E ESTRESSE OXIDATIVO

Como pode ser observado a partir da descrição das funções fisiológicas do NO, esta molécula é de grande importância na homeostasia vascular, atingindo o organismo de modo sistêmico. Entretanto, em muitas situações a modulação da

produção do NO é prejudicada levando a situação de disfunção endotelial ou mesmo morbidades.

Portanto, dada a sua relevância, investigações sobre fatores que regulariam de modo negativo a produção do NO foram intensificadas nos últimos anos. Entre os possíveis causadores de diminuição nos níveis de NO, destacam-se as EROx ou também denominados radicais livres.

Apesar dos mecanismos que levam à perda da bioatividade do NO não estarem totalmente claros, dados experimentais sugerem que o aumento na quantidade de EROx tais como do ânion superóxido (OO^-) rapidamente reage com o NO e contribui para o déficit desta molécula que acontece nas doenças vasculares.^{64,65,66} Dados mais recentes têm demonstrado a contribuição das EROx na deficiência do NO sendo esta associação um indicador prospectivo independente do risco de novos eventos em pacientes com doença arterial coronariana.⁶⁷

A reação entre o NO e o ânion superóxido é muito veloz, cerca de seis vezes maior do que a remoção do superóxido pelas isoenzimas superóxido-dismutases. Nas artérias e veias dos seres humanos o superóxido liberado é assim rapidamente reduzido pelo NO. A remoção do endotélio ou a inibição do NO sintase leva, portanto, ao aumento nas quantidades de superóxido, acompanhado pela diminuição na formação de peroxinitrito.^{68,69} Já quando ocorre aumento de superóxido e, por conseqüência, aumento da reação superóxido-NO, tal reação gera como um dos produtos, peróxinitrito. O aumento na quantidade do peróxinitrito no organismo leva a efeitos negativos adicionais, via oxidação de proteínas celulares, lipídios, partículas de LDL, ou mesmo aumento na toxicidade celular.⁷⁰ Entretanto, a própria formação do peróxinitrito pode também gerar moléculas tais nitrosiladas que funcionam como doadores de NO, que, por sua vez, pode induzir ao vasorrelaxamento⁷¹ e inibir a agregação plaquetária.⁷² Esta condição dicotômica do peróxinitrito provavelmente influenciou Moro et al. no momento da redação do seu artigo sobre o tema quando colocaram no título “destino paradoxal do peróxinitrito”.^b

^b Título original em Inglês: “Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets.”

A origem celular do superóxido vascular é variável segundo os diferentes tipos de vasos sanguíneos^{73,74} e parece estar em maior quantidade em certas doenças como o diabetes, hipertensão e doença coronariana.⁶⁹

Este conjunto de informações corrobora o pensamento de que a reação de limpeza do superóxido pelo NO poderia estar envolvida com a disfunção endotelial que está diretamente relacionada com a aterosclerose. Investigações citadas por Chanon e Guzik⁶⁹ na sua revisão sobre o tema, relataram que a produção de superóxido pelas enzimas Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Hidrogênio (NADPH) oxidases está progressivamente aumentada com o aumento do risco de doença coronariana.

É claro que outros mecanismos associados à diminuição na produção do NO podem estar também associados ao risco de doenças cardiovasculares causado pela modulação negativa de tal molécula. Assim, é relevante que sejam destacadas algumas informações acerca do NO e seu papel nas doenças cardiovasculares, o que será feito a seguir.

2.5 ÓXIDO NÍTRICO E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES

Uma vez que o NO é uma molécula muito versátil e parece ter uma atuação sistêmica diferenciada, questionamentos sobre qual a associação com riscos cardiovasculares clássicos são ainda hoje objeto de estudo.

A seguir serão realizados alguns comentários sobre estudos e possíveis mecanismos biomoleculares de associação entre o NO e fatores de risco cardiovascular.

2.5.1 Dislipidemia (hipercolesterolemia)

A hipercolesterolemia é um dos principais fatores causais da aterosclerose, um processo histologicamente caracterizado por lesões progressivas que vão desde estrias de gorduras até a formação de placas fibrosas que por fim causam oclusão do lúmen da artéria afetada.⁷⁵ Ressaltando o que foi anteriormente comentado, antes do aparecimento de qualquer mudança ultra estrutural ocorre DE e este fenômeno parece estar associado a elevação crônica do colesterol no sangue. Isto porque estudos preliminares têm sugerido que a molécula LDL-colesterol poderia inibir o relaxamento dos vasos via inativação do NO.^{76,77} Isto porque moléculas de LDL-oxidado parecem diminuir a expressão da NOS3, alterar o mecanismo de segundo mensageiro que desencadeia dentro da célula muscular lisa o relaxamento ou reduzir a disponibilidade de substrato para a NOS3 atuar.^{78,79}

Um estudo feito por Feron et al.⁸⁰ investigaram se a hipercolesterolemia poderia reduzir a produção de NO através da alteração do seu equilíbrio regulatório. Para tanto os pesquisadores cultivaram células bovinas endoteliais aórticas na presença de soro obtido de voluntários humanos normocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos. A exposição das células endoteliais ao soro hipercolesterolêmico aumentou a quantidade de calveolina sem qualquer efeito mensurável nos níveis de NOS3. Este efeito foi associado pelos autores à disfunção da liberação basal de NO através da formação de um complexo inibitório calveolina-NOS3. As células expostas somente à porção LDL-colesterol oriunda do soro dos hipercolesterolêmicos mostraram uma inibição do NO dose-dependente tanto quanto uma superregulação da calveolina e a formação do complexo com a NOS3.

Como a hipercolesterolemia reduz a biodisponibilidade de NO, outras evidências mostraram que a terapia genética com NOS3 em coelhos hipercolesterolêmicos revertia substancialmente o déficit de relaxamento vascular, a expressão de moléculas de adesão, a deposição lipídica e a infiltração das células inflamatórias.^{81,82}

2.5.2 Diabetes mellitus

A diabetes mellitus é uma doença sistêmica, de origem multifatorial em que ocorre alteração crônica nos níveis de glicemia plasmática, estando intimamente relacionada com doenças cardiovasculares.

A principal causa de mortalidade em pacientes diabéticos do tipo 2 é a que resulta de complicações ateroscleróticas. Por tal motivo evidências de que a DE ocorra na diabetes são indicadas em estudos que mostram valores elevados de algumas moléculas relacionadas. Entretanto, como diversos fatores de risco cardiovascular convencionais predisponentes a lesão endotelial, como é o caso da HAS, da hipercolesterolemia e do próprio envelhecimento, são prevalentes na diabetes os mesmos poderiam estar influenciando o aparecimento da DE e da aterosclerose nesta doença. Entretanto, Wajchenberg⁸³ salienta que tais fatores de risco não explicam totalmente o acentuado aumento na mortalidade cardiovascular no diabético do tipo 2.

Entretanto, as investigações em pacientes diabéticos têm demonstrado resultados conflitantes. Assim, pode-se dizer que os mecanismos pelos quais a diabetes contribui para a DE não estão totalmente elucidados, ainda que seja provável que a hiperglicemia cause danos potenciais ao endotélio. Estudos experimentais em células endoteliais aórticas humanas mostram que a síntese ou também a liberação do NO endotelial não está diminuída após a exposição a doses elevadas de glicose. Entretanto, ocorreu uma produção elevada de ânions superóxido bem maior do que NO. Como a interação entre o superóxido e o NO é muito rápida levando a formação de um radical livre muito potente, o peróxinitrito, a produção desta molécula poderia contribuir para o estabelecimento da DE via peroxidação lipídica.⁸⁴ Os resultados também mostraram que as células tratadas com glicose apresentavam níveis significativamente mais altos de NO e provavelmente eram degradados pelo superóxido.

Por outro lado diversos estudos sugerem que a produção de NO está reduzida em pacientes diabéticos e que a diminuição desta molécula pode estar relacionada com a patogênese do dano endotelial.^{85,86} Outros estudos têm indicado que a

insulina contribui para a manutenção do tônus vascular através de uma ação fisiológica seletiva no processo de vasodilatação. No caso a vasodilatação mediada pela insulina parece ocorrer via liberação de NO endotelial.^{87,88}

2.5.3 Obesidade

Indivíduos obesos possuem alto risco de desenvolver outras morbidades associadas a doenças cardiovasculares como a diabetes, a dislipidemia e a hipertensão arterial.^{89,90,91}

Porém o número de estudos relacionando à obesidade com óxido nítrico ainda é proporcionalmente pequeno. Anormalidades na vasodilatação endotelial em obesos humanos e animais parecem estar ligadas a hiperglicemia.^{92,93} Investigações em modelos experimentais também indicam que os níveis basais de NO são menores em obesos.⁹⁴

2.5.4 Hipertensão

A hipertensão é uma doença complexa, sendo um fator de risco cardiovascular de alta relevância. Incrementos na PA, tanto agudos quanto crônicos, produzem, entre outras coisas, deterioração do endotélio e mudanças morfológicas na camada íntima da artéria.⁹⁵ Durante a hipertensão crônica pode ocorrer espessamento do endotélio para dentro do lúmen e aumento do espaço sub-endotelial. Estas mudanças histo-anatômicas poderiam reduzir o acesso do NO derivado do endotélio para o músculo liso vascular, que, por sua vez, produziria mais hipertrofia e um progressivo agravamento em decorrência do remodelamento vascular.⁹⁶ Existem experimentos que Alfieri⁴³ considera clássicos, nos quais, ao se interferir na síntese do NO ocorre aumento na PA dos animais investigados^{97,98} ou mesmo em seres humanos.^{99,100,101}

Assim, a inibição crônica do NO conduz rapidamente ao aparecimento de conseqüências orgânicas de uma hipertensão arterial crônica severa, com aterosclerose e perda da vascularidade no sistema nervoso central (SNC) e rins.^{102,103,104}

A HAS em sua etiologia agrega tanto fatores ambientais como interações gene-ambiente. Ainda que os mecanismos patogênicos da hipertensão não estejam totalmente claros, evidências acumuladas até os dias de hoje, sugerem fortemente a associação desta doença com a regulação do NO.^{105,106} Investigações têm mostrado que pacientes hipertensivos costumam apresentar baixos níveis de NO tanto no plasma quanto na urina. Parece que isto ocorre por existir disfunção na produção de NO em tais pacientes.¹⁰⁶ Provavelmente a associação entre NO e HAS ocorre por ser o NO um potente vasodilatador produzido pelas células endoteliais e que tem um papel biológico importante na regulação propriamente dita da pressão sanguínea.

Desde a metade do século XX se conhece que existe relação direta entre o consumo do sal, o incremento da PA e risco cardiovascular. Diferentes estudos epidemiológicos têm comparado os níveis da PA em populações que culturalmente ingerem maior ou menor quantidade de sal. No caso, os resultados têm mostrado que existe uma maior incidência de hipertensão nas populações que ingerem maiores quantidades de sal. Apesar do interesse na área e da sua importância clínica ainda não se conhecem os fatores determinantes da sensibilidade ao sal nos seres humanos. Desta forma, alguns estudos têm sido publicados sobre o papel do NO no controle da excreção do sódio e na hemodinâmica renal.^{107,108} Um exemplo dado por Alfieri⁴³ na sua revisão sobre estudos do óxido nítrico e seu papel mediador em diversas funções fisiológicas e fisiopatológicas é o trabalho feito em ratas obesas da raça Zucker, em que foi observado que o aumento dos níveis de NO na medula renal incrementa a pressão da perfusão renal. Os autores concluíram que o aumento do NO permite a eliminação do sódio sem que ocorram mudanças importantes na pressão renal. Paralelamente, estudos têm demonstrado que a administração de L-arginina a ratas SS preveniu o desenvolvimento de hipertensão arterial e reduziu a resposta hipertensora ao sal.^{43,109}

Estudos adicionais também têm demonstrado que interações gene-ambiente associadas à enzima NOS3 podem estar associadas à hipertensão. Esta hipótese é

sustentada pelo estudo de Miyaki et al.¹¹⁰ que descreveram que a ingestão de sal afetou a associação entre o polimorfismo da T786C da NOS3 e hipertensão. Este tipo de estudo abre espaço para questionamentos de que, se existe interação gene-nutrição, também poderia existir interação gene-atividade física neste tipo de situação?

2.6 ÓXIDO NÍTRICO E ATIVIDADE FÍSICA

Uma grande quantidade de evidências epidemiológicas, clínicas e patológicas têm demonstrado que a atividade física regular é capaz de produzir uma redução nas enfermidades e riscos cardiovasculares incluindo aterosclerose, hipertensão e hiperlipidemia. Estudos demonstraram um incremento no diâmetro coronariano depois de um período de treinamento físico regular sugerindo que um programa de exercício pode reduzir a resistência vascular. É interessante salientar que o efeito benéfico da atividade física ocorre tanto em pacientes hipertensos quanto em indivíduos saudáveis. Apesar de já se ter revisado anteriormente o papel benéfico da atividade física no organismo, o mecanismo pelo qual se obtém estes efeitos ainda não está totalmente elucidado.^{111,112,113}

Qual seria o possível papel da atividade física na modulação do NO? É relevante lembrar que no sistema cardiovascular dos mamíferos, o endotélio apresenta respostas singulares às forças do fluxo sanguíneo. O fluxo pulsátil e a força de cisalhamento (*shear-stress*) são os estímulos fisiológicos responsáveis em parte pela liberação basal do NO.¹¹⁴ No caso, estes eventos não só se produzem durante um exercício físico como são proporcionais à intensidade dos mesmos.

Os fatores hemodinâmicos (definidos como forças mecânicas do fluxo sanguíneo) afetam a biologia endotelial tanto por ação direta das forças de cisalhamento quanto pela deformação por pressão, assim como de modo indireto através de compostos químicos e agonistas. Estes atuam na superfície endotelial alterando a interação destas moléculas com os seus receptores endoteliais. Na realidade estes dois mecanismos não são excludentes um do outro já que as forças

hemodinâmicas ao atuar de forma direta sobre as enzimas de superfície dos receptores poderiam modificar a interação substrato-enzima e agonista-receptor, assim como também podem trocar a concentração da superfície dos agonistas.⁴³

Por este motivo, a força de cisalhamento pode, entre outras coisas, ativar ou estimular a síntese da enzima NOS3. Aqui cabe recordar que como a NOS3 possui um sitio de miristilação, este permite que a enzima se encaixe na membrana plasmática facilitando a ativação da NOS3 pelas forças de cisalhamento, que são produzidas durante a atividade física. Bode-Borger et al.¹¹⁵ demonstraram que a atividade física regular produz um incremento na quantidade urinária de nitritos e nitratos e de GMPc excretados por sujeitos saudáveis sugerindo que tal incremento poderia contribuir na vasodilatação associada ao exercício.

Um estudo conduzido por Sessa et al.¹¹⁶ descreveu aumento na NOS3 constitutiva em animais submetidos a um programa de exercício físico. Segundo Sessa os resultados obtidos neste tipo de investigação poderiam contribuir para dar uma explicação parcial da ação benéfica da atividade física regular sobre a saúde cardiovascular, já que o exercício induziria ao aumento na expressão da NOS3 melhorando a biodisponibilidade do NO endógeno. O aumento da biodisponibilidade não só aumenta a vasodilatação, mas também inibe a agregação plaquetária, possui propriedades anti-oxidantes, antiproliferativas e antiapoptóticas.¹¹⁷ Por sua vez a inatividade física poderia afetar a função endotelial e alterar a modulação do NO, como foi mostrado pelo estudo de Suvorava et al.¹¹⁸ que investigou os efeitos da inatividade física em camundongos jovens. Estes pesquisadores observaram que nos camundongos inativos ocorreu uma redução estatisticamente significativa na atividade da enzima citrato sintase, no vasorrelaxamento dependente do endotélio, e na expressão da NOS3.

Entretanto, uma vez que o balanço entre os níveis de NO e de radicais livres pode levar a um maior conjunto de efeitos benéficos ou não, uma questão também relevante de ser investigada seria qual o efeito de diferentes intensidades de exercício na vasodilatação dependente do endotélio? Um estudo conduzido por Goto et al.¹¹⁹ investigou esta questão em 26 japoneses saudáveis do gênero masculino com uma idade média de 25 anos. No experimento foram avaliadas as respostas de fluxo sanguíneo do antebraço para a acetilcolina, que é um vasodilatador dependente

do endotélio e o isosorbide dinitrato que é um vasodilatador independente do endotélio, antes e após a realização de exercícios com diferentes intensidades. As intensidades foram definidas como baixa (25% do $VO_2\text{max}$), moderada (50% do $VO_2\text{max}$) e alta (75% do $VO_2\text{max}$). Os exercícios foram realizados em cicloergômetro durante 30 minutos de cinco a sete vezes por semana durante doze semanas. Adicionalmente marcadores de estresse oxidativo como é o caso da 8-hidroxi-deoxiguanosina que indica dano no DNA, foram medidos. Os resultados mostraram que exercícios aeróbios de intensidade moderada aumentaram a vasodilatação dependente do endotélio através do aumento da produção de NO. Já, exercícios de alta intensidade possivelmente aumentaram o estresse oxidativo uma vez que ocorreu aumento nos níveis de dano do DNA.

Um outro estudo conduzido por Bergholm et al.¹²⁰ mostrou que treinamento físico intenso ao longo de 12 semanas a 70-80% do $VO_2\text{max}$ que consistiu de uma hora de corrida quatro vezes por semana resultou na diminuição de moléculas anti-oxidantes circulantes no sangue como é o caso do alfa-tocoferol e beta-caroteno em homens saudáveis. Estes achados sugerem que o exercício intenso ao longo de um período extenso de tempo (12 semanas) pode prejudicar a vasodilatação endotélio-dependente através da diminuição dos níveis de anti-oxidantes e aumento das EROx, que resulta na redução na biodisponibilidade do NO.

Investigações também têm sido feitas em indivíduos com doença ou risco cardiovascular. Na revisão feita por Kingwell¹²¹ sobre a regulação do NO durante o exercício o autor salientou que, dada a importância do NO como mecanismo sinalizador durante o exercício, o treinamento de indivíduos com alto risco cardiovascular ou com doença coronariana estabelecida poderia aumentar a biodisponibilidade do NO e representar um importante fator pelo qual este treinamento poderia ser benéfico e importante para a prevenção secundária.

Kingwell¹²¹ ainda destaca os efeitos do treinamento físico na função do NO e subseqüentemente nos riscos cardiovasculares. O autor coloca que o potencial terapêutico para normalizar a vasodilatação dependente do NO em pacientes doentes tem sido examinado em muitos estudos, ainda que poucos tenham publicado os efeitos metabólicos relacionados com o NO incluindo a modulação da glicose. Entre estes efeitos pode ser destacado: (1) aumento da vasodilatação

dependente do endotélio em hipertensos que realizaram caminhadas diárias durante 30 minutos em um período de 12 semanas; (2) melhoria do perfil lipídico em pacientes hipercolesterolêmicos submetidos a exercícios moderados; (3) aumento na recaptção celular da glicose em pacientes diabéticos também submetidos a treinamento.

Apesar deste conjunto de evidências mostrando o efeito benéfico da atividade física na biodisponibilidade do NO, fatores intervenientes podem afetar a relação NO e atividade física, entre os quais, as variações genéticas na NOS3 têm um papel considerável.

2.6.1 Polimorfismos genéticos da Enzima Óxido Nítrico Sintase

Como já foi comentado anteriormente, a maior parte do NO biológico é produzido enzimaticamente a partir da L-arginina por uma família de três enzimas denominadas NOS. Entretanto, salienta-se que produção não enzimática de NO pode ocorrer via peróxido de hidrogênio com a arginina ou peroxinitrito com glutathiona. Das três, a NOS3 é também a principal isoenzima expressa pelo epitélio pulmonar e é responsável pelo NO exalado. Evidências têm mostrado também que a região promotora funcional da NOS3 expressada nas células epiteliais é diferente das células endoteliais. Já a nNOS é expressa tanto nos neurônios quanto no músculo esquelético sendo responsável pela produção fisiológica do NO nestes tecidos. Uma vez que as terminações nervosas estão distribuídas densamente na parede vascular, a NOS3 neuronal também pode contribuir significativamente para a produção dos níveis basais de NO. Apesar desta relação ainda existem poucos estudos sobre o papel da nNOS nas doenças cardiovasculares. Já a iNOS não é geralmente expressa em um estado sub-estimulado, mas pode ser induzida em estados inflamatórios ou infecciosos.

No caso da NOS3, que é objeto do presente estudo, o gene que a produz possui 26 exons e tem mais que 21kb (GenBank D26607).¹²² Como o gene da NOS3 foi o primeiro a ser seqüenciado, diversas variações genéticas foram observadas

tanto na região promotora quanto em exons e introns. Wang e Wang¹²³ revisando as variações genéticas da NOS3 e sua associação com doenças cardiovasculares, destacaram alguns polimorfismos de um nucleotídeo simples (*single nucleotide polymorphism*).

Wang e Wang¹²³ revisaram estudos caso-controle de polimorfismos da NOS3 e doenças ou riscos cardiovasculares. Destes, quatorze investigaram doença arterial coronariana, sendo que seis apresentaram associação positiva entre a doença e os polimorfismos estudados. Dois estudos investigaram espasmo cardíaco, sendo que um apresentou associação positiva. Onze estudos focaram a hipertensão, sendo que seis apresentaram associação estatística com polimorfismos da NOS3. Já, das cinco investigações sobre AVC citadas, duas apresentaram associação positiva e das sete sobre doença renal quatro foram significativas. O conjunto dos trabalhos citados sugere fortemente influência da variação genética no gene NOS3 em associação com doenças cardiovasculares. Entretanto, assim como existem trabalhos que encontraram associação com um dado polimorfismo, outros não encontraram.

Por este motivo Wang e Wang¹²³ destacaram no seu artigo que ainda não está claro se as associações com os polimorfismos da NOS3 e doenças vasculares poderiam ser afetadas por fatores ambientais. Aqui os mesmos destacaram o tabagismo como exemplo. Isto porque, ainda que a NOS3 seja uma enzima constitutiva sua expressão pode ser regulada por várias condições que mudem o fluxo hemodinâmico.

Neste caso, a atividade física também poderia influenciar a expressão da NOS3. No caso pessoas portadoras de polimorfismos que diminuíssem a expressão da NOS3, mas que ao longo da sua vida ou por períodos extensos realizaram atividade física poderiam apresentar um perfil saudável, assim como pessoas com genótipos normais mas alta taxa de sedentarismo poderiam apresentar um perfil cardiovascular patológico.

Investigar o quanto esta interação (gene da NOS3-atividade/inatividade física) seria verdadeira é uma tarefa árdua mas que é relevante para se entender e até mesmo, no futuro, se manejar de modo diferenciado o treinamento físico das pessoas.

Nestes termos, o presente trabalho focou este questionamento, realizando, de modo exploratório, uma primeira análise entre a relação dos níveis habituais de atividade física de idosos, o polimorfismo G894T da NOS3 e indicadores de saúde. Optou-se por investigar idosos, uma vez que representam um grupo de sobreviventes em relação à população mais jovem indicando a ocorrência de fatores que contribuíram positivamente para o seu envelhecimento.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a interação entre atividade física cotidiana, o polimorfismo G894T da NOS3 e fatores de risco e morbidades cardiovasculares (antropológicos, fisiológicos, bioquímicos e clínicos) em idosos que vivem na cidade de Gravataí.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em idosos socialmente ativos (participantes de grupos de terceira idade):

- a) descrever as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo G894T da NOS3;
- b) descrever a prevalência de idosos insuficientemente ativos e suficientemente ativos;
- c) analisar a associação entre o polimorfismo da NOS3 com fatores de risco e morbidades cardiovascular.
- d) analisar a associação entre atividade física cotidiana e fatores de risco e morbidades cardiovascular;
- e) analisar a interação entre o polimorfismo da NOS3 e atividade física cotidiana em fatores de risco e morbidades cardiovascular.

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO

Foi realizado um estudo retrospectivo, observacional, individuado utilizando como base de dados o Projeto GÊNESIS - Gravataí.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O Projeto GÊNESIS-Gravataí,¹²⁴ foi executado em duas partes: 1^a) Análise quali-quantitativa do perfil da população gaúcha visando a escolha do município para a implementação do projeto, bem como a descrição da estrutura geral do projeto; 2^a) análise do perfil de migração e étnico de idosos incluídos na primeira fase do Projeto.

1^a Parte: os seguintes critérios foram determinados para a escolha do município: 1. localização até 50 km de distância de Porto Alegre-RS, local onde se encontra o núcleo de investigação (IGG-PUCRS); 2. ter sido fundado por elementos étnicos que inicialmente povoaram o Estado, principalmente por indivíduos europeus de origem portuguesa mesclados a grupos étnicos ameríndios (particularmente, indígenas tupis de origem guarani), escolha preferencial de municípios fundados até 1950, tendendo-se a excluir os municípios criados a partir de outros pré-existentes após este período; 3. expectativa de vida média ao nascer próxima a do RS (70-72 anos de idade); 4. produto interno bruto (PIB), em dólar, médio-superior (> 800.000 dólares/ano); 5. um tamanho populacional entre 100 e 250 mil habitantes e uma taxa de imigração elevada, avaliada pelo crescimento populacional do município a partir da análise dos dados dos censos populacionais realizados entre 1939 a 1996 e análise da proveniência dos indivíduos imigrantes, para que possíveis variações étnicas presentes na população gaúcha pudessem estar contempladas.

Para a realização da primeira parte do estudo foram utilizadas informações obtidas a partir da base de dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE),¹²⁵ do Sistema de Informação de Mortalidade do Sistema Único de Saúde (DATASUS),¹²⁶ da Fundação Estadual de Economia e Estatística do Rio Grande do Sul (FEE-RS)¹²⁷ e da Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul.¹²⁸ Os anos de referência para análise do perfil dos municípios candidatos à implementação do projeto foram preferencialmente 1996 e 1997, e alguns dados econômicos relativos ao ano de 1998.

2ª parte: um estudo transversal, observacional, descritivo-analítico foi realizado, com vistas a implementação de uma investigação do coorte em um subgrupo populacional de idosos. A estrutura do protocolo foi feita com base em pressupostos teóricos descritos por Skzio.¹²⁹

4.3 POPULAÇÃO, AMOSTRA E ORIGEM DOS DADOS

Um estudo de base comunitária foi realizado, incluindo-se sujeitos que realizavam atividades sociais informais (grupos de terceira idade). Tal escolha foi feita porque uma vez que se optou pelo desenvolvimento do projeto em uma população com taxa de migração alta e com um tamanho populacional relativamente grande (>100 mil habitantes) a inclusão e o seguimento de uma amostra sem estrutura organizacional comunitária e/ou governamental poderiam causar perdas amostrais significativas, inviabilizando o seu seguimento.

Para o cálculo do tamanho da amostra: considerando-se uma população de idosos com tamanho máximo de morbididades, estimada a partir de estudos similares,¹²⁸ de 0,50, um erro padrão de 0,03, intervalo de confiança de 0,95 e uma perda potencial de 0,20, mostraram a necessidade de inclusão de 1066 indivíduos. Uma vez que, entre 1999-2000, havia 1.158 idosos participantes de grupos de terceira idade com idade ≥ 60 anos cadastrados na Secretaria de Cidadania e Ação Social do Município de Gravataí-RS, optou-se pela inclusão de 100% dos mesmos. Os critérios de exclusão foram a não concordância do idoso em participar do

presente estudo, bem como a retirada de indivíduos previamente diagnosticados com doença arterial coronariana (angina pectoris e IAM).

A fim de não discriminar idosos com idade inferior a 60 anos, uma avaliação geral de saúde dos mesmos foi realizada sendo fornecidas orientações preventivas de doenças crônico-degenerativas, com ênfase às doenças cardiovasculares.

Os dados coletados dos idosos previamente selecionados e incluídos no Projeto GÊNESIS-Gravataí entre os anos de 1999 a 2003, foram investigados para responder aos objetivos deste estudo.

4.4 INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO

Conforme Flores et al.,¹³⁰ para a coleta e a comparação dos dados foi adotado um instrumento de avaliação com um conjunto de variáveis similares às investigadas no Relatório Estadual Multidimensional do Idoso (REMI-RS). Adicionalmente, foram incorporadas variáveis analisadas em estudos sobre epidemiologia do envelhecimento. O instrumento abordou as seguintes questões: situação socioeconômica, estrutura familiar, condições de saúde física e cognitiva. O instrumento foi aplicado sob a forma de uma entrevista estruturada e as condições de saúde física e cognitiva foram avaliadas a partir de auto-relato e/ou autopercepção (relato de saúde, disfunções e de morbidades prévias).¹³¹ As seguintes variáveis clínicas e antropométricas foram investigadas: **1.** Pressão arterial, medida no braço direito, com o indivíduo sentado, através de esfigmomanômetro de coluna de mercúrio, tendo sido realizadas duas medidas com cinco minutos de intervalos entre elas, após o paciente estar dez minutos em repouso, sendo que os níveis iguais ou acima de 140 mmHg, para pressão sistólica (PAS), e/ou de 90 mmHg, para pressão diastólica (PAD), foram considerados alterados segundo critérios do III Consenso Brasileiro de Hipertensão 1998;¹³² **2.** A estatura em metros, obtida com a utilização de um estadiômetro, e a massa corporal em quilogramas obtida com a utilização de uma balança digital, foram utilizados para o cálculo do IMC através da razão da massa em Kg pela estatura em metros ao

quadrado. **3.** A circunferência abdominal mínima (cintura): os dados foram coletados a partir de medida realizada ao nível da crista ilíaca, com a utilização de uma fita métrica. **4.** Porcentagem de gordura corporal: foi obtida através da quantificação por impedância bioelétrica (aparelho tipo HBF-300, OMRON, Japan). **5.** Para as variáveis bioquímicas (perfil lipídico e glicêmico): foi coletado sangue periférico dos idosos, sendo observado um jejum de no mínimo 12 horas e realizadas reações químicas que foram analisadas por espectrofotometria; para classificar o perfil lipídico dos idosos, utilizou-se o III Consenso Brasileiro de Dislipidemia.¹³³ **6.** Os níveis de atividade física foram investigados previamente por Cruz et al.¹³⁴ através da aplicação do “Questionário Internacional de Atividade Física” (IPAQ). O autor do presente trabalho participou ativamente na coleta dos dados acima descritos.

Os recursos utilizados para a condução dos estudos foram obtidos junto ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pelo Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal Docente (CAPES), pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e pela Prefeitura Municipal de Gravataí.

Os dados obtidos estão armazenados nas pastas de formulários dos idosos e os cadernos de biologia molecular, organizados dentro das boas práticas laboratoriais internacionais (com folhas numeradas e com fotos das genotipagens realizadas) que se encontram sob a tutela da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS. Uma vez que o delineamento de todos os estudos, bem como os recursos para a sua execução estavam sob a responsabilidade da Profa. Dr. Ivana Beatrice Manica da Cruz, foi obtida autorização prévia para o seu uso na tese desenvolvida (Apêndice B).

4.5 CARACTERIZAÇÃO GERAL DOS INDICADORES DO MUNICÍPIO DE GRAVATAÍ

Para o desenvolvimento desta tese uma análise adicional dos indicadores atuais demográficos e de saúde do Município de Gravataí foi conduzida.

4.5.1 Indicadores demográficos

A comparação do Brasil, RS e Gravataí das expectativas de vida para o ano 2000, bem como das pirâmides etárias dos anos 1980 e 2000 são respectivamente apresentados nos Apêndice C e Figura 3, mostrando grande similaridade de Gravataí com o Estado do Rio Grande do Sul.



Figura 4 - Expectativas de vida ao nascer para o ano de 2000. Fonte: FEE-RS.¹³⁵

4.5.2 Indicadores epidemiológicos de mortalidade

Uma comparação da evolução da mortalidade proporcional (%) por faixa etária segundo o grupo de causas (CID10) também foi feita entre Gravataí, Brasil e Rio Grande do Sul sendo apresentada no Apêndice D.¹³⁶

Nos grupos etários mais velhos da população as taxas de mortalidade foram muito similares às do Rio Grande do Sul e do Brasil.

4.5.3 Demais indicadores de saúde

Uma síntese geral de outros indicadores de saúde e qualidade de vida da população de Gravataí, é apresentada no Apêndice E, com dados obtidos do IBGE.³

4.6 DESCRIÇÃO DAS PRINCIPAIS VARIÁVEIS INVESTIGADAS NO ESTUDO

4.6.1 Variáveis socioeconômicas e culturais

Dados coletados sobre nível de escolaridades (em anos de estudo), renda mensal, estado civil, situação laboral (aposentado/ativo), tipo de moradia, com quem vive foram utilizadas para caracterizar a amostra investigada.

4.6.2 Variáveis antropométricas e fisiológicas relacionadas com obesidade e hipertensão arterial sistêmica

Foram consideradas variáveis coletadas a partir de exame físico como: o peso, a altura, a circunferência abdominal, a porcentagem de gordura corporal (%gordura) e a pressão arterial. Adicionalmente foi utilizado para caracterizar sobrepeso e obesidade: **(1)** índice de Quetelet ($IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$). Valores até 25 kg/m^2 foram considerados normais, valores entre 25 kg/m^2 e 30 kg/m^2 foram considerados sobrepeso e, acima de 30 kg/m^2 , obesidade, conforme recomendação da Organização Mundial da Saúde.¹³⁷ Para determinação da estatura os indivíduos deveriam estar em pé, com os calcanhares unidos e encostados à base do estadiômetro, procurando colocar também a cintura pélvica, a cintura escapular e a região occipital em contato com o aparelho. A cabeça ficou orientada no plano de Frankfurt, que é a posição definida quando a linha imaginária que passa pelo bordo inferior da órbita e o ponto mais alto do conduto auditivo externo está paralela ao

solo e forma um ângulo reto com o eixo longitudinal do corpo. Para determinação da massa corporal o avaliado posicionou-se em pé no centro da balança procurando mover-se o mínimo possível para evitar grandes oscilações nos valores a serem registrados. A massa corporal foi registrada em quilogramas, com uma precisão de 100 gramas.; **(2)** circunferência abdominal (cintura): os dados foram coletados a partir de medida realizada ao nível da crista ilíaca, com a utilização de uma fita métrica, com escala em cm. A fita métrica foi colocada ao redor da cintura dos indivíduos ficando de forma levemente ajustada a circunferência sem que o tecido adiposo ficasse comprimido, evitando com isso possíveis valores subestimados, valores até 80 cm foram considerados normais para mulheres e até 94 cm foram considerados normais para homens. Acima destes valores, os indivíduos foram considerados portadores de obesidade central.¹³⁸ **(3)** Porcentagem de gordura corporal: foi obtida através da quantificação por impedância bioelétrica (aparelho tipo HBF-300, OMRON, Japan). Para esta quantificação, os idosos deviam estar em posição supina (em pé), segurando o aparelho com ambas as mãos a frente do corpo.¹³⁹ A partir dos critérios propostos por Lemieux et al.,¹⁴⁰ as idosas foram consideradas obesas quando apresentavam %gordura ≥ 35 e os idosos quando apresentavam %gordura ≥ 25 . **(4)** para caracterizar hipertensão foi utilizada referência de diagnóstico prévio realizado por um médico. Adicionalmente foram considerados os dados coletados sobre avaliação da pressão arterial sistêmica (PA). A PA foi obtida a partir da medida da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), utilizando-se esfigmomanômetro de mercúrio (Erka, Germany) com manguito adequado para a circunferência do braço direito. Para tanto, cada participante permaneceu em repouso (sentado) por no mínimo 5 minutos antes do início das medições. Duas medidas foram tomadas de cada voluntário guardando-se intervalos de aproximadamente 30 minutos entre as mesmas. O aparecimento dos sons foi utilizado para a identificação da PAS e o desaparecimento (fase V de Korotkoff) para identificação da PAD. Devido à possibilidade da existência de pseudo-hipertensão causada pelo enrijecimento da artéria braquial por aterosclerose (que pode elevar a pressão em 30 mmHg ou mais), utilizou-se concomitante à medição da PAS a manobra de Osler (que é considerada positiva quando a artéria radial permanece palpável ao se insuflar o manguito acima do nível da PAS),¹⁴¹ sendo que estes casos foram excluídos. Valores de pressão arterial inferior a 140/90 mmHg foram

considerados normais, conforme as recomendações do III Consenso Brasileiro de Hipertensão.¹³²

4.6.3 Variáveis associadas à dislipidemia

Dados relacionados com análises bioquímicas do perfil lipídico também foram considerados no presente estudo. As análises foram feitas a partir da coleta de amostra de sangue venoso, estando os voluntários em jejum de no mínimo 12 horas. As coletas foram feitas em tubos sem anticoagulante para quantificação do perfil lipídico (colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides) e glicemia que foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Genética Molecular do IGG-PUCRS. Para avaliação do colesterol total (CT) a técnica manual de reação enzimática colorimétrica para a quantificação do colesterol total através do uso de reagente enzimático comercial Cholesterin/Cholesterol Chod-Pap (MPR2, Boehringer-Mannheim, Germany) foi utilizada. Leituras de padrões de colesterol 50 mg/dl, 100 mg/dl, 200 mg/dl e 400 mg/dl do Preciset Cholesterol Calibrator 125512 (Boehringer-Mannheim, Germany) foram feitas sendo considerado como valor final a média de 2 determinações realizadas para cada amostra plasmática.¹⁴² O HDL-colesterol foi medido através da técnica de precipitação com Heparina-Mn²⁺ de Gildez com algumas modificações para a determinação plasmática do HDL-c. As lipoproteínas que continham Apolipoproteínas B-100 (as VLDL e LDL) foram precipitadas com heparina-Mn²⁺ (Sigma Chemical Co, USA); após foram incubadas e centrifugadas (centrífuga refrigerada Model RB-18II, Tomy Seiko Co. Ltd, Japan). O sobrenadante foi então coletado para se realizar a quantificação das partículas de HDL-c através de reação enzimática colorimétrica para colesterol, sendo considerado como valor final a média de duas determinações feitas para cada amostra plasmática.¹⁴³ Os níveis de triglicérides plasmáticos foram obtidos pela utilização da técnica manual de reação enzimática colorimétrica através do *kit* comercial Labtest TG Gpo-Ana enzimático (Argentina). Leituras de padrões de triglicérides de 150mg/dl, e 300mg/dl foram feitas usando o Preciset Triglicéride Calibrator 125512 (Boehringer-Mannheim, Germany), sendo considerado como valor final a média de duas determinações realizadas para cada amostra plasmática.¹⁴⁴ Os

níveis de LDL-colesterol plasmático foram estimados através da fórmula de Friedewald para valores de triglicérides inferiores a 400 mg/dL.¹⁴⁴

Os valores de referência de colesterol total, LDL-c, HDL-c e TG foram usados segundo recomendação do III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia e Diretriz de Prevenção da aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (Tabela 1).¹³³

Tabela 1 - Valores do perfil lipídico segundo as recomendações da III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia para adultos (>20 anos).¹³³

Lípides	Valores (mg/dL)		
	Desejáveis	Limítrofes	Aumentados
CT	< 200	200-239	≥ 240
LDL-c	< 130	130-159	≥ 160
HDL-c	≥ 35	-	-
TG	< 200	-	≥ 200

4.6.4 Variável associada a diabetes do tipo 2

Referência dos voluntários de história prévia por diabetes diagnosticada por um médico foi considerada no presente estudo. Adicionalmente, níveis glicêmicos também foram considerados no presente trabalho. Para tanto o método enzimático colorimétrico, através do *kit* comercial da Bio Diagnóstica ICQ Ltda (Paraná, Brasil), sendo considerado como valor final a média de duas determinações realizadas para cada amostra plasmática. Os níveis plasmáticos de glicose acima de 126 mg/dl foram considerados diagnóstico de diabetes mellitus.¹⁴⁴

4.7 CLASSIFICAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA

Foi utilizado o “Questionário Internacional de Atividade Física” (IPAQ): Este instrumento foi validado em um estudo realizado no ano de 2000 em doze países (Austrália, Canadá, Finlândia, Guatemala, Itália, Japão, Portugal, África do Sul, Suécia, Inglaterra, Estados Unidos e Brasil) sob a coordenação e supervisão da Organização Mundial de Saúde, do Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos e do Instituto Karolinska da Suécia. No Brasil o Centro de Estudos do Laboratório de Aptidão Física de São Caetano do Sul (CELAFISCS), coordenado pelo Dr. Victor Matsudo, foi o responsável pelo desenvolvimento da pesquisa. Em 2001 o Comitê Executivo responsável pelo desenvolvimento do IPAQ publicou um relatório parcial desta aplicação experimental no qual indicava que este questionário apresentava características psicométricas aceitáveis para uso em estudos de prevalência sobre a participação em atividades físicas.¹⁴⁵ Os resultados finais desse estudo foram então publicados por Craig et al.¹⁴⁶

O Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ), possui oito versões de questionários e duas formas de aplicação: longa e curta. É um instrumento de precisão, de fácil aplicação e baixo custo, usado internacionalmente, que permite estimar o tempo semanal gasto na realização de atividades físicas de intensidade moderada a vigorosa e em diferentes contextos da vida (trabalho, tarefas domésticas, transporte e lazer) possibilitando realizar um levantamento da prevalência da atividade física em grandes grupos populacionais. O IPAQ é aplicado sob a forma de uma entrevista estruturada tendo como referência a última semana de vida do avaliado, contendo perguntas em relação à frequência e duração da realização de atividades físicas moderadas, vigorosas e de caminhada (Anexo A).

Uma vez que a forma completa do IPAQ é altamente complexa e que muitos dos dados relativos ao tempo de atividade acabam sendo muito subjetivos, principalmente devido a grande prevalência da diminuição biológica na performance cognitiva dos idosos, os dados coletados foram re-analisados tendo como referência a forma curta do IPAQ associada a uma análise parcial dos dados obtidos na forma

longa do IPAQ. Esta forma tem sido investigada em estudos populacionais brasileiros anteriores como é o caso do feito por Baretta em 2005.¹⁴⁷

Na forma curta do IPAQ os critérios propostos e o agrupamento em categorias classificam as populações em três categorias: insuficientemente ativo, suficientemente ativo e muito ativo baseados nas seguintes características:

- a) **INSUFICIENTEMENTE ATIVO:** aquele que não realizou nenhum tipo de atividade física ou realizou algum tipo de atividade física, porém não suficiente para se enquadrar nas categorias 2 e 3.
- b) **SUFICIENTEMENTE ATIVO:** aquele indivíduo que cumpriu as recomendações de:
 - ba) 3 ou mais dias de atividade vigorosa de pelo menos 20 minutos por dia OU;
 - bb) 5 ou mais dias de atividades de intensidade moderada ou caminhadas de pelo menos 30 minutos por dia OU;
 - bc) 5 ou mais dias de qualquer combinação de atividades entre caminhadas e atividades com intensidade moderada ou vigorosa alcançando um mínimo de pelo menos 600 MET-minutos/semana.
- c) **MUITO ATIVO:** aquele indivíduo que excede o mínimo exigido pelas recomendações para a prática de atividade física. Esta categoria fixa um limite mais alto de atividade física. Os dois critérios para a classificação como muito ativos, são:
 - ca) atividades de intensidade vigorosa, em pelo menos 3 dias da semana e acumulando pelo menos 1500 MET-minutos/semana OU;
 - cb) 5 ou mais dias de qualquer combinação de atividades entre caminhadas e atividades com intensidade moderada ou vigorosa, alcançando um mínimo de pelo menos 1500 MET-minutos/semana.

Uma vez que Cruz et al.¹³⁴ já haviam demonstrado que a prevalência de idosos muito ativos era baixa, optou-se por classificar os mesmos apenas nos dois primeiros grupos: insuficientemente ativo e suficientemente ativo.

4.8 VARIÁVEIS ASSOCIADAS À GENOTIPAGEM MOLECULAR

O DNA que foi utilizado para analisar o polimorfismo genético da NOS3 foi obtido dos leucócitos de amostras de sangue periférico venoso coletado por um sistema de venólise a vácuo e armazenado em tubos com 1% de EDTA (com um volume final de concentração de 1mg/dL). Após a coleta, o material coletado foi mantido a 4°C até a extração do DNA por até 24 horas. A seguir o DNA genômico foi isolado dos leucócitos utilizando o kit de extração *Genomic Blood DNA Purification* (Amersham Biosciences Inc, Co.).¹⁴⁸

O polimorfismo genético foi determinado através das técnicas consorciadas de amplificação gênica (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) seguida de genotipagem via enzima de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP). Para averiguar o polimorfismo G894T (Glu298Asp) da NOS3 realizou-se a técnica de *polymerase chain reaction/restriction fragments length polymorphism* (PCR-RFLP). Foram utilizados 1,25 µL dos *primers*: *forward* 5' TCC CTG AGG AGG GCA TGA GGC T 3' e *reverse* 5' TGA GCC TCA CAC AGG TTC CT 3', taq polimerase 0,25 µL, dNTPs 2,0 µL, MgCl₂ (cofator) 0,75 µL, tampão 2,5 µL e 16,5 µL de H₂O meQ. O produto do PCR foi visualizado através de eletroforese em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídio. Após a genotipagem, o produto amplificado foi digerido pela endonuclease de restrição *Ban* II (Invitrogen, USA), utilizando-se 20 µL do produto do PCR, 0,65 µL da enzima *Ban* II, tampão 2,5 µL e 1,85 de H₂O meQ. A digestão foi realizada a 37°C durante 20 horas. Os fragmentos digeridos foram visualizados por meio de eletroforese em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídio, no qual foram encontrados os seguintes fragmentos : genótipo TT uma banda forte de 248pb, GG duas bandas 163pb e 85pb e GT as três bandas.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O banco de dado foi digitado em planilha eletrônica Microsoft Excel e os dados estatisticamente analisados pelo programa SPSS – versão 12,0 for Windows. O referencial teórico estatístico utilizado no estudo foi o descrito por Waaser-Smoller.¹⁴⁹ Os dados foram comparados através dos seguintes testes:

Dados contínuos: os mesmos foram previamente testados para normalidade através do teste Kolmogorov-Smirnov. Os dados com padrão normal foram analisados pela análise de variância *Oneway*, seguidos pelo teste *post hoc* de Bonferroni. Dados com padrão não normal foram analisados através da análise de variância não-paramétrica de *Kruskall-Wallis*, seguida pelo teste não-paramétrico de *Wilcoxon-Mann-Whitney*. Quando apenas duas categorias eram comparadas entre si, utilizou-se o teste *Student t* nas análises.

Dados categóricos: foram analisados pelo teste não-paramétrico do qui-quadrado. No caso da amostra apresentar uma frequência esperada menor que 5% foi realizado o teste exato de Fisher.

Todos os testes cujo $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4.10 ÉTICA

Como os dados obtidos foram retrospectivos e não foi realizado nenhum tipo adicional de análise, seja molecular, seja de outras variáveis, não foi necessária a obtenção de novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido junto aos idosos investigados. Este estudo foi conduzido seguindo os pressupostos da Resolução 196/1996 do CONEP e no Apêndice F é apresentado o Termo de Consentimento Livre Esclarecido, bem como a autorização do CEP-PUCRS para a realização deste trabalho, no Apêndice G.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E BIOLÓGICA DA AMOSTRA

Na primeira parte do estudo, um total de 437 indivíduos foi investigado quanto às freqüências alélicas e genotípicas do polimorfismo da NOS3. As freqüências alélicas foram $G=0,655$ e $T=0,345$. As freqüências genotípicas observadas foram: $GG=38,8\%$ ($n=169$), $GT=53,3\%$ ($n=234$), $TT=7,8\%$ ($n=34$). A idade média da amostra foi de $66,76 \pm 6,78$ anos existindo 314 mulheres (72,18%) e 121 homens (27,82%). As freqüências genéticas observadas estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg, ou seja, foram similares às freqüências esperadas em uma população grande, de cruzamento ao acaso e que não está sofrendo pressão de seleção, migração ou mutação. Esta análise sugere que, a princípio, não existam problemas relacionados com a representatividade genética da amostra.

Desta amostra, 174 (40%) idosos foram também avaliados quanto à atividade física e demais variáveis relevantes ao estudo. No caso, no grupo menor, as freqüências alélicas ($G=0,672$, $T=0,328$) e genotípicas ($GG= 39,7$ (69)%, $GT=54,6\%$ (96) e $TT= 5,7\%$ (9) permaneceram similares ao grupo maior da amostra, portanto, não sendo estatisticamente diferentes. Destes, 42 (24,1%) eram do gênero masculino e 132 (75,9%) feminino. As freqüências genotípicas foram estatisticamente similares entre os homens e as mulheres participantes do estudo. As características basais destes indivíduos são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2 – Características gerais da amostra investigada

Variáveis	Média	dp	Mínimo	Máximo
Idade	67,60	7,56	51,00	92,00
PAS (mmHg)	144,44	23,55	90,00	255,00
PAD (mmHg)	81,80	12,21	40,00	130,00
Cintura (cm)	95,84	11,67	60,60	125,50
Peso (kg)	71,37	13,73	39,00	150,30
Altura (m)	1,57	0,08	1,36	1,81
IMC	28,17	4,74	16,98	43,20
CT (mg/dL)	197,83	38,03	118,00	319,00
Tri(mg/dL)	178,70	72,32	50,00	389,00
Glic(mg/dL)	115,83	33,15	68,00	327,00
HDL-col(mg/dL)	46,46	11,55	28,00	89,00
LDL-col(mg/dL)	116,15	35,29	31,00	233,00
Albumina (mg/dL)	4,28	0,25	3,60	4,90
Creatinina (mg/dL)	1,07	0,23	0,66	2,48
Proteína (mg/dL)	6,57	0,52	4,14	7,78
Bilirubina total (mg/dL)	0,48	0,19	0,22	1,25
Ureia (mg/dL)	40,94	16,13	15,00	147,00
Ast/Got (mg/dL)	23,23	5,30	13,00	46,00
Alt/GPT (mg/dL)	22,64	7,85	10,00	65,00

A seguir a prevalência de fatores de risco e morbidades coronarianas foi analisada nos homens e mulheres idosos participantes do estudo (Tabela 3).

Tabela 3 – Prevalência dos fatores de riscos e morbidades coronarianas em homens e mulheres idosos

Variáveis	Homens % (n)	Mulheres % (n)	<i>p</i>
Tabagismo	31,0 (13)	23,5 (31)	0,05
Obesidade (≥ 30 Kg/m²)	26,8 (11)	45,4 (59)	0,03
HAS	40,5 (17)	68,2 (90)	0,001
Dislipidemia	26,2 (11)	46,2 (61)	0,02
Diabetes mellitus	19,8 (08)	17,8 (23)	0,859
Angina	16,7 (07)	24,4 (32)	0,29
IAM	16,7 (07)	11,5 (15)	0,37

HAS= hipertensão arterial sistêmica, IAM= infarto agudo do miocárdio. *p*= nível de significância; n= tamanho amostral. Comparação realizada pelo teste do qui-quadrado. Valores *p*<0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

As mulheres apresentaram uma prevalência significativamente mais alta de obesidade, HAS e dislipidemia. Já os homens apresentaram uma prevalência significativamente maior de tabagismo. Em relação à prevalência de morbidades coronarianas previamente existentes na amostra, as mesmas foram similares nos dois gêneros.

Em relação à atividade física, 21,8% (n=38) da amostra foi classificada como insuficientemente ativa (IA) enquanto 78,2% (n=136) foi considerada suficientemente ativa (SA) pelo IPAQ. Homens e mulheres apresentaram frequências de indivíduos ativos e sedentários estatisticamente similares (Homens=78,6% (n=33) Mulheres=78,0% (n=103)). A prevalência de fatores de risco e morbidades coronarianas é apresentada na Tabela 4. Surpreendentemente, os idosos ativos apresentaram uma prevalência significativamente maior de dislipidemia do que os IA. As demais variáveis apresentaram distribuição similar nos dois grupos relacionados à atividade física.

Tabela 4 – Prevalência dos fatores de riscos e morbidades coronarianas em idosos suficientemente ativos (SA) e insuficientemente ativos (IA)

Variáveis		SA	IA	<i>p</i>
		% (n)	% (n)	
Gênero	Masculino	78,6 (33)	21,4 (9)	0,941
	Feminino	78,0 (103)	22,0 (29)	
Tabagismo		33,1 (45)	39,5 (15)	0,46
Obesidade (≥ 30 Kg/m ²)		39,6 (53)	45,9 (17)	0,48
HAS		62,5 (85)	57,9 (22)	0,60
Dislipidemia		45,6 (62)	26,3 (10)	0,05
Diabetes mellitus		16,3 (22)	25,0 (09)	0,22
Angina		24,4 (33)	15,8 (6)	0,25
IAM		11,9 (16)	15,8 (6)	0,52

HAS= hipertensão arterial sistêmica, IAM= infarto agudo do miocárdio. *p*= nível de significância; n= tamanho amostral. Comparação realizada pelo teste do qui-quadrado. Valores *p*<0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

A seguir a comparação dos níveis de variáveis fisiológicas e bioquímicas relacionadas à saúde cardiovascular foi realizada. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5. Como pode ser observado não ocorrem diferenças significativas entre idosos com diferentes genótipos da G894T.

Tabela 5 – Comparação de variáveis biológicas relacionadas com o risco cardiovascular entre idosos com diferentes genótipos do polimorfismo G894T do gene da enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS3).

Variável	Genótipo	Média	±dp	
Idade	GG	68,64	8,49	a
	TT	70,00	10,64	a
	GT	66,20	6,33	a
PAS (mmHg)	GG	145,58	24,95	a
	TT	151,67	40,15	a
	GT	142,55	21,92	a
PAD (mmHg)	GG	82,75	12,62	a
	TT	83,33	10,00	a
	GT	81,13	12,53	a
Cintura (cm)	GG	95,45	10,84	a
	TT	95,11	16,11	a
	GT	95,87	11,44	a
Peso (Kg)	GG	69,69	13,96	a
	TT	69,48	14,21	a
	GT	72,23	13,53	a
Gordura corporal (%)	GG	37,84	7,26	a
	TT	35,07	5,59	a
	GT	39,91	6,68	a
IMC (Kg/m ²)	GG	28,07	5,41	a
	TT	26,94	4,44	a
	GT	29,47	4,21	a
CT (mg/dL)	GG	193,73	38,01	a
	TT	199,28	51,58	a
	GT	205,16	38,30	a
Triglicerídeos (mg/dL)	GG	173,30	76,45	a
	TT	183,57	83,42	a
	GT	180,66	67,76	a
Glicemia (mg/L)	GG	111,98	20,57	a
	TT	114,43	19,75	a
	GT	115,57	33,26	a
HDL-col (mg/dL)	GG	47,33	12,05	a
	TT	42,71	12,08	a
	GT	46,38	11,12	a
LDL-col (mg/dL)	GG	111,92	35,66	a
	TT	119,71	42,52	a
	GT	123,62	33,97	a

PAS= Pressão arterial sistólica, PAD= pressão arterial diastólica, CT= colesterol total, dp= desvio padrão. Comparações de variáveis entre os genótipos seguidas de letras iguais (a,b,c...) indicam que não houve diferenças significativas pela análise de variância multivariada seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

A seguir a distribuição da prevalência dos fatores de risco e morbidades cardiovasculares em idosos com diferentes genótipos da NOS3 foi determinada e é apresentada na Tabela 6. Uma análise adicional para averiguar o efeito da homozigose interagindo com a atividade física (GG versus TT+GT e TT versus GG+GT) foi conduzida, não sendo observada nenhuma diferença significativa.

Tabela 6 – Comparação da prevalência dos fatores de riscos e morbidades coronarianas em idosos com diferentes genótipos do polimorfismo da NOS3

Variáveis	Genótipos			<i>p</i>	
	GG	TT	GT		
Gênero	Masculino	50 (21)	9,5 (04)	40,4 (17)	0,08
	Feminino	36,4 (48)	3,8 (05)	59,8 (79)	
Tabagismo		33,3 (23)	33,3 (03)	35,4 (34)	0,960
Obesidade(≥30 Kg/m²)		26,1 (18)	33,3 (03)	52,7 (49)	0,003
HAS		59,1 (41)	44,4 (04)	64,6 (62)	0,446
Dislipidemia		37,3 (26)	33,3 (03)	44,8 (43)	0,580
Diabetes mellitus		15,2 (11)	22,2 (02)	19,1 (18)	0,843
Angina		18,8 (13)	22,2 (02)	25,3 (24)	0,624
IAM		13,0 (09)	11,1 (01)	12,6 (12)	0,986

HAS= hipertensão arterial sistêmica, IAM= infarto agudo do miocárdio. *p*= nível de significância; n= tamanho amostral. Comparação realizada pelo teste do qui-quadrado. Valores *p*<0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Os resultados mostraram que idosos GG apresentavam menor prevalência de obesidade do que idosos GT e TT. A fim de verificar o possível efeito de dose, os genótipos foram agrupados em duas grandes categorias e comparados entre si. Na primeira, o genótipo GG foi comparado com indivíduos com genótipo TT+GT e na segunda, o genótipo TT foi comparado com indivíduos com genótipo GG+GT. A prevalência, bem como a razão de chance desta comparação com os respectivos intervalos de confiança a 95% e nível de significância são apresentadas na Figura 5 e Tabela 7, respectivamente. Como pode ser observado, idosos que possuíam pelo menos um alelo T apresentam 2,947 vezes mais chance de serem obesos do que os que homozigotos GG. A distribuição do gênero foi similar tanto na comparação GG x TT+GT quanto na comparação TT x GG+GT.

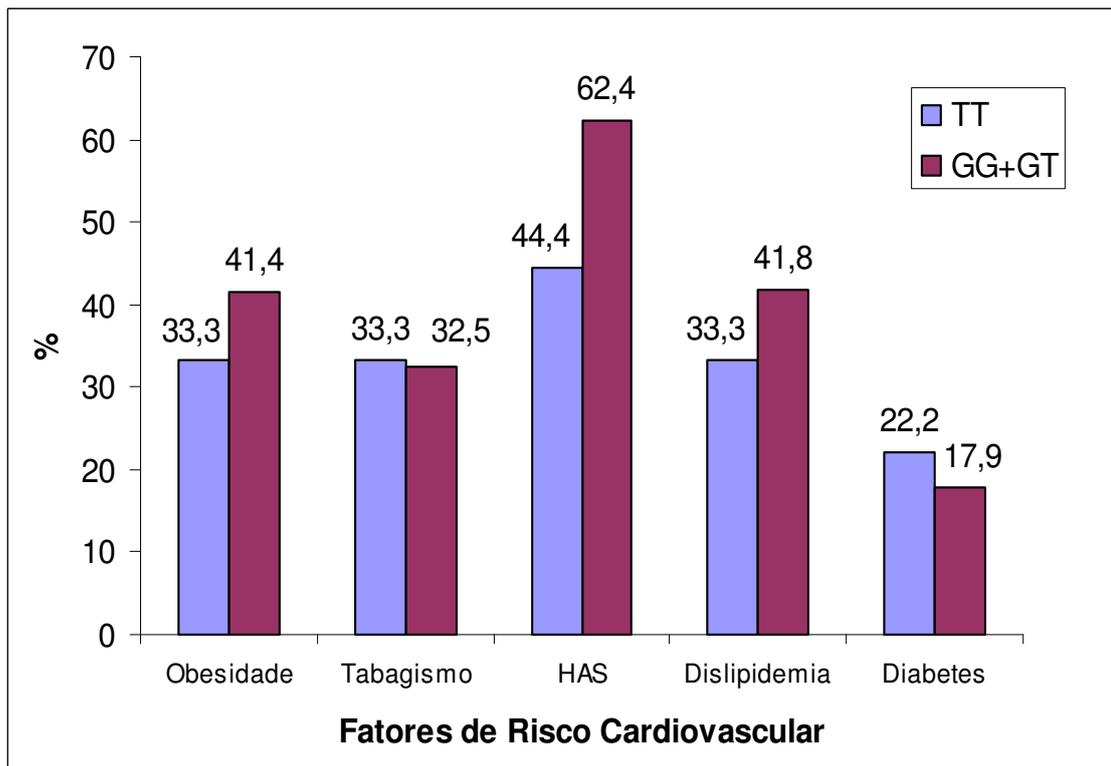
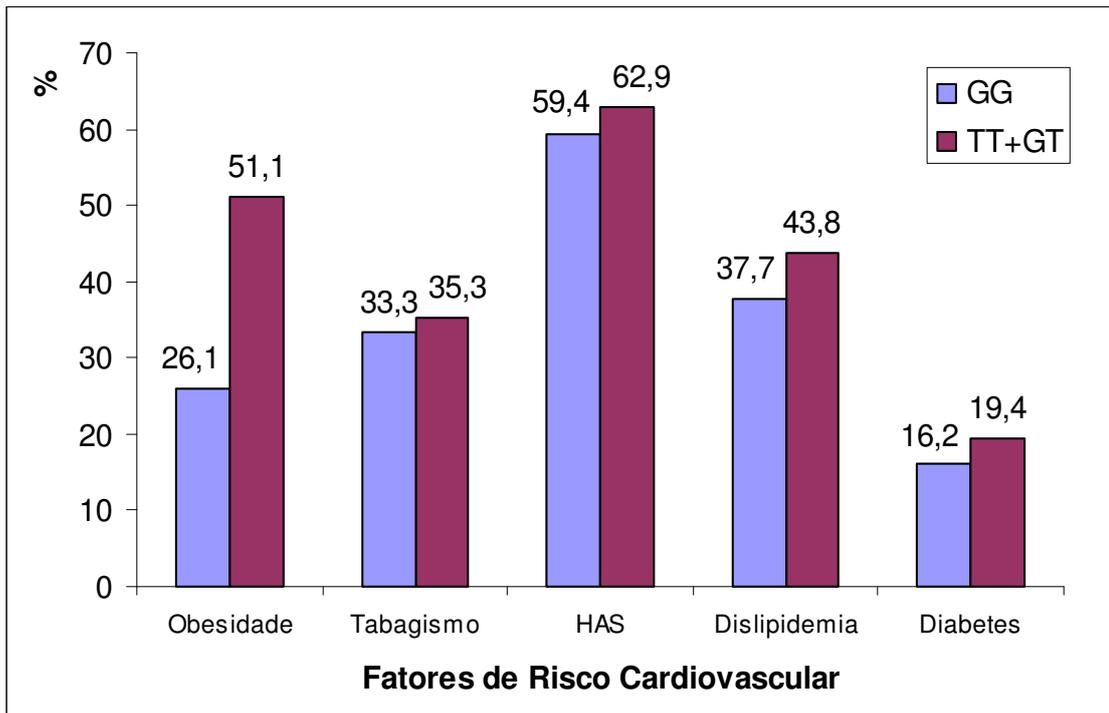


Figura 5 - Prevalência dos fatores de risco cardiovascular e efeito de dose alélica do polimorfismo da NOS3 em idosos (GG x TT+GT e TT x GG+GT). *= diferença significativa a $p < 0,05$ calculada pelo teste do qui-quadrado. HAS= Hipertensão arterial sistêmica.

Tabela 7 – Descrição da razão de chance (*Odds Ratio*) obtida na análise da associação do efeito de dose do polimorfismo da NOS3 (GG x TT+GT e TT x GG+GT) com riscos e morbidades coronarianas em idosos

Variáveis		RC	IC95% Mínimo-Máximo	<i>p</i>
Tabagismo	GG x TT+TG	1,088	0,573-2,066	0,796
	TT x GG+GT	0,947	0,228-3,929	0,941
Obesidade	GG x TT+TG	2,947	1,519-5,718	0,0013
	TT x GG+GT	0,709	0,171-2,935	0,634
HAS	GG x TT+TG	1,156	0,620-2,154	0,649
	TT x GG+GT	0,482	0,125-1,861	0,280
Dislipidemia	GG x TT+TG	1,289	0,693-2,399	0,422
	TT x GG+GT	0,696	0,168-2,878	0,615
Diabetes	GG x TT+TG	1,249	0,556-2,805	0,590
	TT x GG+GT	1,310	0,259-6,634	0,743
Angina	GG x TT+TG	1,436	0,679-3,037	0,342
	TT x GG+GT	0,981	0,195-4,924	0,981
IAM	GG x TT+TG	1,020	0,203-5,119	0,916
	TT x GG+GT	0,851	0,101-7,153	0,9882

RC= razão de chance (Odds ratio); HAS= hipertensão arterial sistêmica, IAM= infarto agudo do miocárdio. *p*= nível de significância; IC95%= intervalo de confiança a 95%; Comparação realizada pelo teste do qui-quadrado. Valores *p*<0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

5.2 ANÁLISE DO EFEITO DA INTERAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO G894T DA NOS3 E NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA DE IDOSOS SOBRE A PREVALÊNCIA DE RISCOS E MORBIDADES CORONARIANAS

Após a realização das análises separadas da associação entre níveis de atividade física e riscos e morbidades coronarianas e entre os diferentes genótipos ou alelos do polimorfismo da NOS3 e riscos e morbidades cardiovasculares foi conduzida uma análise do efeito na interação destas duas variáveis (atividade física e genética). Para tanto, os indivíduos do grupo SA foram analisados separadamente dos pertencentes ao grupo IA. Uma vez que o número de indivíduos afetados por doenças coronarianas (angina pectoris e IAM) era muito baixo, a análise de interação gene-atividade física não foi conduzida nestas variáveis.

Os resultados mostrados nas Tabelas 8, 9 e 10 dizem respeito ao grupo SA. A comparação dos níveis de variáveis fisiológicas e bioquímicas analisados neste

estudo mostrou que os mesmos eram similares entre os três genótipos nos idosos SA. Investigação adicional comparando idosos portadores de pelo menos um alelo T ou pelo menos um alelo G também não encontrou diferenças significativas.

Tabela 8 – Comparação de variáveis biológicas relacionadas com o risco cardiovascular entre idosos classificados como suficientemente ativos (SA) portadores de diferentes genótipos do polimorfismo G894T do gene da enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS3)

Variável	Genótipo	Média	±dp	
Idade	GG	68,93	8,78	a
	TT	64,33	6,92	a
	GT	65,88	6,43	a
PAS (mmHg)	GG	142,45	18,38	a
	TT	136,67	12,11	a
	GT	141,74	20,40	a
PAD (mmHg)	GG	82,36	12,35	a
	TT	81,67	9,83	a
	GT	82,17	12,85	a
Cintura (cm)	GG	94,48	10,45	a
	TT	96,08	13,01	a
	GT	95,08	11,67	a
Peso (Kg)	GG	68,16	12,72	a
	TT	73,58	11,83	a
	GT	72,44	13,82	a
Gordura corporal (%)	GG	37,16	7,38	a
	TT	32,75	4,21	a
	GT	39,77	6,45	a
IMC (Kg/m ²)	GG	27,56	5,33	a
	TT	27,51	4,55	a
	GT	29,46	4,31	a
CT (mg/dL)	GG	197,31	39,23	a
	TT	194,80	42,69	a
	GT	207,79	37,64	a
Triglicérides (mg/dL)	GG	173,96	80,75	a
	TT	176,00	70,96	a
	GT	184,94	66,01	a
Glicemia (mg/L)	GG	110,83	21,22	a
	TT	109,20	20,73	a
	GT	112,44	29,13	a
HDL-col (mg/dL)	GG	46,88	11,41	a
	TT	37,40	4,83	a
	GT	46,07	11,67	a
LDL-col (mg/dL)	GG	115,83	36,36	a
	TT	122,00	33,48	a
	GT	125,96	32,88	a

PAS= Pressão arterial sistólica, PAD= pressão arterial diastólica, CT= colesterol total, dp= desvio padrão. Comparações de variáveis entre os genótipos seguidas de letras iguais (a,b,c...) indicam que não houve diferenças significativas pela análise de variância multivariada seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

Nos 136 indivíduos ativos foi observada associação com o polimorfismo da NOS3 com o gênero, obesidade e hipertensão. Na análise do efeito de dose, pode ser observado que no grupo SA ocorreu uma frequência significativamente maior de homens TT do que mulheres portadoras deste mesmo genótipo. No grupo dos idosos ativos (SA) aqui analisado, os portadores do genótipo GG apresentaram uma prevalência menor de obesidade, enquanto que os portadores do genótipo TT apresentaram uma prevalência menor de hipertensão arterial sistêmica.

Tabela 9 – Interação genética-atividade física: comparação da prevalência de riscos e morbidades coronarianas em idosos suficientemente ativos (SA) com diferentes genótipos do polimorfismo NOS3

Variáveis		Genótipos			<i>p</i>
		GG	TT	GT	
Gênero	Masculino	51,5 (17)	12,1 (04)	36,4 (12)	0,007
	Feminino	36,9 (38)	1,9 (02)	61,2 (63)	
Tabagismo		30,9 (17)	50,0 (03)	33,3 (25)	0,63
Obesidade(≥30 Kg/m²)		21,8 (12)	33,3 (02)	53,3 (40)	0,001
HAS		58,2 (32)	16,7 (01)	69,3 (52)	0,026
Dislipidemia		41,8 (23)	16,7 (01)	50,7 (38)	0,21
Diabetes mellitus		14,5 (08)	0,00 (00)	18,9 (14)	0,435

HAS= hipertensão arterial sistêmica; *p*= nível de significância; n= tamanho amostral. Comparação realizada pelo teste do qui-quadrado. Valores *p*<0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Tabela 10 – Descrição da razão de chance (Odds Ratio) obtida na análise da associação do efeito de dose o polimorfismo da NOS3 (GG versus TT+GT e TT versus GG+GT) com riscos e morbidades coronarianas em idosos suficientemente ativos (SA)

Variáveis		RC	IC95%	<i>p</i>
			Mínimo-Máximo	
Tabagismo	TT+TG x GG	1,181	0,568-2,457	0,136
	TT x GG+GT	0,847	0,407-1,762	0,656
Obesidade	TT+TG x GG	3,866	1,777-8,412	0,0001
	TT x GG+GT	0,755	0,133-4,275	0,750
HAS	TT+TG x GG	1,360	0,672-2,753	0,391
	TT x GG+GT	0,110	0,012-0,960	0,018
Dislipidemia	TT+TG x GG	0,774	0,388-1,544	0,467
	TT x GG+GT	0,226	0,026-1,990	0,146
Diabetes	GG x TT+TG	1,246	0,484-3,209	0,648
	TT+TG x GG	1,206	1,115-1,304	0,269

RC= razão de chance (Odds ratio); HAS= hipertensão arterial sistêmica; *p*= nível de significância; IC95%= intervalo de confiança a 95%; Comparação realizada pelo teste do qui-quadrado. Valores *p*<0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Infelizmente o número de idosos IA (n=38) era bem menor do que de ativos. Este pequeno tamanho determinou, por exemplo, que nenhum indivíduo TT, do gênero masculino e insuficientemente ativo fosse detectado na amostra investigada. Por este motivo, a Tabela 11 apresenta somente os resultados observados em indivíduos GG e GT e as análises de efeito de dose foram, neste caso, suprimidas.

Tabela 11 – Interação genética-atividade física: comparação da prevalência de riscos e morbidades coronarianas em idosos insuficientemente ativos (IA) com diferentes genótipos do polimorfismo NOS3

Variáveis		Genótipos			p
		GG	TT	GT	
Gênero	Masculino	44,4 (04)	0 (0,0)	55,6 (5)	0,699
	Feminino	34,5 (10)	10,3 (03)	55,6 (05)	
Tabagismo		42,9 (06)	-	37,5 (9)	0,505
Obesidade (≥ 30 Kg/m ²)		42,9 (06)	-	47,8 (11)	0,769
HAS		64,3 (09)	-	54,2 (13)	0,542
Dislipidemia		21,4 (03)	-	29,2 (07)	0,601
Diabetes mellitus		23,1 (03)	-	26,1 (06)	0,586

HAS= hipertensão arterial sistêmica; = nível de significância; n= tamanho amostral. Comparação realizada pelo teste do qui-quadrado ou teste Exato de Fisher. Valores $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Em síntese, os resultados mostraram um quadro diferencial na prevalência de fatores de risco coronariano quando a análise incluiu somente os idosos ativos com diferentes genótipos da NOS3. Estes resultados apontaram para um possível efeito na queda da prevalência da obesidade em indivíduos GG em relação aos portadores de pelo menos um alelo T. Já idosos ativos TT apresentaram uma prevalência significativamente menor de hipertensão em relação aos GG+GT.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo foi feita uma análise exploratória sobre o possível efeito da atividade física, do polimorfismo G894T da NOS3 e interação entre estas duas variáveis sobre a prevalência de fatores clássicos de risco cardiovasculares em idosos. Os resultados sugeriram que pode ocorrer interação entre estas duas variáveis. Estes dados, então, poderiam auxiliar no entendimento da heterogeneidade de relatos publicados na literatura, que muitas vezes são discordantes em relação à associação de polimorfismos genético com doenças ou seus fatores de risco.

Os comentários feitos a seguir discorrem sobre a relevância e os principais resultados aqui descritos.

6.1 RELEVÂNCIA DO ESTUDO

As duas últimas décadas foram pródigas na produção de conhecimento que demonstra a relevância fisiológica de moléculas como o óxido nítrico e ao mesmo tempo fortalece a visão de que variáveis do estilo de vida como é o caso da atividade física são fundamentais para a manutenção da saúde cardiovascular e um envelhecimento saudável. Adicionalmente, avanços na área de genética molecular têm levado à implementação de estudos antes inimagináveis, que permitem verificar efeitos de interação gene-gene ou mesmo gene-ambiente.

É claro que, investigações que agreguem áreas emergentes são desafiadoras, porque ao mesmo tempo em que exploram novas possibilidades de esclarecimento de aspectos relacionados com a fisiopatologia das doenças ou mesmo com a biologia do envelhecimento, também apresentam uma série de limitações que precisam ser consideradas e debatidas. Acredita-se que o estudo aqui apresentado encontre-se nesta categoria e por tal motivo, seja relevante.

6.2 FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES E SUA ASSOCIAÇÃO COM ATIVIDADE FÍSICA

A prevalência dos fatores de risco cardiovasculares dos idosos aqui investigados (sub-amostra) foi similar à descrita por Flores et al.¹³⁰ realizada em toda a amostra do Projeto GÊNESIS-Gravataí (n=1058 idosos). Por sua vez, esta foi similar à descrita para idosos do Rio Grande do Sul no Relatório Multidimensional do Idoso (REMI), estudo este, realizado através da parceria de 14 universidades gaúchas ainda na década de 90. A única exceção foi a prevalência significativamente maior de HAS nos idosos do Projeto Gênesis-Gravataí, o que possivelmente ocorreu por terem sido realizados exames clínicos que avaliaram os níveis pressóricos em dois momentos temporalmente diferentes, confirmando assim o diagnóstico de hipertensão. No caso, idosos avaliados pelo REMI apenas fizeram o uuto-relato de história prévia desta morbidade.

Estudos longitudinais desenvolvidos, principalmente nestes últimos quarenta anos possibilitaram a identificação dos chamados riscos cardiovasculares clássicos.^{2,6} A prevalência de cinco destes fatores de risco (obesidade, hipertensão, diabetes, dislipidemia e tabagismo) foi determinada em uma amostra de idosos que participam de grupos de terceira idade.

Neste estudo se observou que a relação da prevalência de idosos IA foi menor do que a dos SA. Revisão da literatura mostrou que este resultado tendeu a ser similar a outros estudos brasileiros que também utilizaram o IPAQ para avaliar a atividade física de idosos. No estudo conduzido por Benedetti¹⁵⁰ em idosos residentes em Florianópolis-SC a prevalência de indivíduos ativos foi de 59,3%. Outro estudo, também conduzido somente em mulheres idosas residentes em Florianópolis-SC participantes de grupos de convivência (como os que compõem a amostra aqui estudada) descreveu uma prevalência de 66,2%.¹⁵⁵ Uma análise da prevalência de idosas residentes em Goiânia-GO ativas e inativas que aderiram à prática de hidroginástica mostrou uma prevalência de 76% de mulheres ativas.¹⁵¹ Um outro estudo que realizou uma análise multidimensional de 420 idosos também da cidade de Goiânia descreveu que 51,8% dos mesmos eram ativos.¹⁵²

As atividades físicas diárias são importantes para que os idosos permaneçam com uma melhor aptidão física, pois requerem um nível mínimo de força muscular, flexibilidade, coordenação e equilíbrio, mas ajudam a manter a sua capacidade funcional.¹⁵³ No Brasil, assim como em outros países, dispõe-se de poucos dados sobre a prevalência de sedentarismo (inatividade física), principalmente entre grupos especiais como crianças, idosos e portadores de necessidades especiais (PNEs). Em grande parte isto acontece porque existe uma grande dificuldade para avaliar o comportamento quanto à prática de atividades físicas devido à falta de instrumentos padronizados e com bom nível de precisão para utilização em estudos populacionais e em diferentes contextos sociais e culturais. Por este motivo, a construção do IPAQ foi um passo estratégico para a análise e comparação da prevalência dos níveis de atividade física em diferentes populações.

O IPAQ é um instrumento que permite estimar o tempo semanal gasto na realização de atividades físicas de intensidade moderada a vigorosa e em diferentes contextos da vida (trabalho, tarefas domésticas, transporte e lazer). Há ainda a possibilidade de estimar o tempo despendido em atividades mais passivas, como as realizadas na posição sentada. Felizmente o IPAQ foi não só validado para uso na população brasileira, mas também em idosos brasileiros.¹⁵⁴

Entretanto, apesar do IPAQ permitir a categorização dos indivíduos em três grupos (inativos, ativos e muito ativos) uma grande parte dos estudos opta por classificar os idosos em inativos e ativos, ou como é o caso do trabalho aqui apresentado, em suficientemente ativos (SA) e insuficientemente ativos (IA). Esta opção tem como base o seguinte: existe uma variação grande nos níveis de atividade física de intensa a moderada, entre um indivíduo e outro. Esta condição torna mais difícil realmente afirmar quem é ativo ou muito ativo, pois existe uma gradação enorme de atividades de vida diária, lazer, trabalho, transporte, exercício físico estruturado, etc. Entretanto, a inatividade física pode ser claramente definida e, na realidade, é esta condição que é considerada fator de risco de doenças como as cardiovasculares. Nestes termos, justifica-se a opção feita em classificar os idosos aqui estudados em IA e SA.

Infelizmente o número de publicações sobre a prevalência de atividade física em idoso brasileiro é muito pequeno. Apesar desta limitação, é relevante informar

que muito possivelmente a alta prevalência de idosos SA na amostra estudada está relacionada, em grande parte ao estilo de vida. Isto porque na avaliação das categorias do IPAQ, grande parte inclui no seu cotidiano uma série de atividades como afazeres domésticos, jardinagem, deslocamento a pé e de ônibus, além de uma série de serviços manuais. Além do mais, por participarem ativamente de grupos de terceira idade é prática regular, segundo relato espontâneo dos participantes e observação empírica dos pesquisadores, participação em bailes no mínimo três vezes ao mês.

Segundo o *American College of Sports Medicine*¹⁵⁵ mulheres e homens sedentários apresentam uma taxa mais elevada de infarto do miocárdio não-fatal, derrame, doença vascular periférica, hipertensão arterial e Diabetes Mellitus Tipo 2. Além do mais, há um aumento dos fatores da coagulação no sangue, triglicérides, LDL, IMC ou peso corporal e da prevalência do tabagismo, além de uma diminuição da taxa de colesterol HDL. Séries controladas de exercícios físicos têm resultado em reduções do colesterol total, triglicérides, LDL, pressão arterial sistólica e diastólica, gordura corporal e fatores de coagulação e em aumento do colesterol HDL, dos fatores fibrinolíticos e da sensibilidade à insulina. Embora os dados disponíveis sejam limitados, as mulheres parecem obter benefícios similares aos dos homens com a prática de atividade física.

Embora de menor abrangência populacional e envolvendo grupos diferentes, há outros estudos que de certo modo corroboram os achados sobre sedentarismo na população brasileira. Pesquisa realizada no final da década de 1980 apontou uma prevalência de sedentarismo de 69,3% para a população do município de São Paulo.¹⁵⁶ Entretanto este dado não é uniforme para todas as regiões do País. Existem estudos que apontam prevalências de sedentarismo um pouco menores, como as encontradas na pesquisa realizada no início da década de 1990, com 1.157 indivíduos entre 15 e 64 anos de idade, residentes no município de Porto Alegre, que identificou uma prevalência de sedentarismo geral de 47%.¹⁵⁷ Este resultado também aponta que parte da diminuição da prevalência de sedentarismo observada na amostra de idosos aqui investigada pode ser um efeito regional, já que o estudo de Duncan et al.¹⁵⁹ foi feito em Porto Alegre e o Município de Gravataí faz parte da sua região metropolitana.

Análise adicional da literatura a partir de um estudo que averiguou a prevalência de obesidade a partir de um delineamento metodológico similar em idosos freqüentadores de dois serviços ambulatoriais de geriatria em Londrina-PR aponta para uma prevalência maior deste fator de risco nos idosos aqui investigados tanto para os homens quanto para as mulheres (9,3% e 23,8%, respectivamente). Entretanto, os autores também encontraram que mulheres apresentavam significativamente uma prevalência maior de obesidade do que os homens.¹⁵⁸

Tal resultado também foi descrito em outros estudos como o de Ukoli et al.,¹⁵⁹ Velazquez-Alva et al.,¹⁶⁰ Ostir et al.¹⁶¹ Estes últimos identificaram também, em uma população idosa do México, que mulheres apresentavam uma prevalência de 35% de obesidade e os homens de 23%. Neste caso, a prevalência deste estudo foi a mais aproximada com as aqui descritas, ainda que nas mulheres da amostra aqui investigada tal prevalência foi ainda maior.

Esta variação na prevalência da obesidade em populações de idosos latino-americanos também é observada em outros continentes. No estudo Euronut SENECA,¹⁶² que analisou idosos de 75 a 80 anos, de 19 cidades da Europa, as prevalências de obesidade variavam de 4 a 56% nas mulheres e de 7 a 43% nos homens. Uma vez que a amostra de idosos aqui investigada é oriunda de uma população que tem forte contribuição étnica européia, a prevalência alta de obesidade aqui observada não é, necessariamente, discrepante.

Um outro fator de risco que gera uma alta carga de morbidade é a hipertensão arterial sistêmica. Estima-se que, em 2025, haverá mais de 30 milhões de idosos hipertensos no Brasil. Estudos epidemiológicos brasileiros demonstram que a prevalência de hipertensão arterial entre idosos, à semelhança da observada em todo o mundo, é bastante elevada. Aproximadamente 65% dos idosos são hipertensos, e entre as mulheres com mais de 75 anos a prevalência de hipertensão pode chegar a 80%.¹⁶³

No estudo, as mulheres apresentaram maior prevalência desta morbidade do que os homens. A hipertensão arterial afeta mais ou menos 52% das mulheres com mais de 40 anos e, aproximadamente, três de cada quatro mulheres acima de 75 anos apresentam essa condição. A hipertensão é mais comum nas mulheres negras

do que nas brancas e acredita-se que ela contribua para a elevação da taxa de mortalidade por DAC. Embora tratamentos medicamentosos tragam benefícios, medidas preventivas devem ser implementadas. Essas observações novamente corroboram a importância da prevenção de doenças cardíacas em mulheres de todas as idades.¹⁵⁷

Mulheres também apresentaram uma prevalência de dislipidemia maior do que homens idosos. A quantidade anormal de lipídeos e lipoproteínas no sangue tem sido ultimamente relacionada à SM e à DAC e vem sendo chamada de "dislipidemia aterogênica". Essas anormalidades consistem em um aumento de leve a moderado no colesterol LDL e nos triglicérides, com a predominância de um LDL menor, mais denso e mais aterogênico e em baixos níveis de colesterol HDL. Depois dos 65 anos, um baixo nível de HDL e um alto índice de triglicérides parecem ser fatores de risco de desenvolvimento da DAC mais relevantes para mulheres do que para homens. Os aumentos do LDL e do colesterol total relacionados à idade são maiores nas mulheres do que nos homens, assim como a substituição por partículas de LDL menores, mais densas e mais aterogênicas. Mais de 40% das mulheres com mais de 55 anos possuem níveis elevados de colesterol.¹⁵⁷ Os resultados aqui descritos mostram uma prevalência de dislipidemia similar (46,2%).

Nenhum outro fator de risco cardíaco tão significativo quanto a diabetes mellitus aumenta a predisposição dos seus portadores para adquirir DAC. Apesar da prevalência desta morbidade ser similar nos idosos investigados, é bom destacar que mulheres diabéticas possuem um risco três a sete vezes maior de ter um problema cardíaco do que as normoglicêmicas. Adicionalmente possuem duas a três vezes mais chance do que os homens com diabetes de desenvolverem DAC. A diabetes mellitus dobra a chance de um segundo ataque cardíaco em mulheres, mas não nos homens. Além disso, 80% das mulheres com diabetes mellitus morrerão por causa de algum tipo de doença cardiovascular. Considerando a população mundial a diabetes tipo 2 afeta mais mulheres do que homens.¹⁵⁷

Em síntese, a prevalência dos riscos cardiovasculares clássicos na amostra de idosos investigada pode ser considerada dentro da variação esperada em populações de idosos. A prevalência de angina pectoris e IAM também se enquadrou dentro da variação esperada quando os dados são comparados com os

do Inquérito Geral de Agravos e Doenças Não Transmissíveis, que foi realizado em nove cidades brasileiras, incluindo Porto Alegre. Nesta, os idosos apresentaram uma variação da prevalência de doenças isquêmicas do coração entre 8,5% a 20,5%.¹⁶⁴

No caso do presente estudo, o resultado mais surpreendente em relação à prevalência de riscos cardiovasculares diz respeito à similaridade das mesmas entre os idosos SA e IA. Isto porque, como foi comentado anteriormente, está bem estabelecido o papel protetor da atividade física no risco de doenças cardiovasculares. Por este motivo, atualmente se busca compreender melhor os mecanismos biofisiológicos associados a esta proteção e aumentar conhecimentos que permitam refinar a proteção da atividade física à saúde dos indivíduos conforme o seu momento do desenvolvimento e suas tendências genéticas (personalizar a atividade física).

Provavelmente, tal resultado ocorreu por ser esta uma população ativa e com a saúde geralmente estável. A única variável que ficou no limite da significância foi a prevalência de dislipidemia que neste caso tendeu ser maior no grupo de idosos ativos.

Uma vez que todos os idosos participantes do Projeto GÊNESIS-Gravataí que realizavam o conjunto de exames e análises laboratoriais propostas nos diferentes segmentos do estudo eram examinados e recebiam orientação médica geriátrica, e mais de 63% segundo Flores et al.¹³⁰ relatavam ir periodicamente ao médico (pelo menos uma vez por ano), uma possível explicação para este resultado seria a ocorrência de intervenção médica prévia nos idosos dislipidêmicos, que teriam recebido orientação para a realização de atividade física adicional. Entretanto, seria necessário um estudo complementar para elucidar esta questão.

Como um conjunto cada vez maior de evidências demonstra que um envelhecimento saudável é dependente de etapas anteriores da vida, é possível que as similaridades observadas entre os dois grupos seja ainda um reflexo da vida jovem pregressa dos idosos menos ativos. Esta é outra questão que fica em aberto e que poderá ser investigada futuramente.

6.3 ESTUDOS SOBRE O POLIMORFISMO G894T DA NOS3 ASSOCIADOS À ATIVIDADE FÍSICA

Se estudos sobre o NO são relativamente recentes, mais recente ainda são as investigações voltadas à identificação e análise de associação de polimorfismos genéticos da NOS3 e a possível interação com variáveis ambientais, como é o caso da atividade física.

A investigação foi concebida, considerando-se a plausibilidade biológica da associação ou interação entre a genética da NOS3 e a atividade física: (1) um conjunto de evidências mostra que a regulação da disponibilidade do NO endotelial ocorre em nível de síntese desta enzima. Portanto, indivíduos portadores de variações genéticas, potencialmente, têm uma menor produção de NO; (2) variações metabólicas desta enzima podem ser causadas por alterações genéticas que, por sua vez, poderiam estar associadas à fisiopatologia da DE ou mesmo a aterosclerose;¹⁶⁵ (3) um conjunto de resultados que mostra a partir, principalmente de análises *in vitro* e em modelos animais que o exercício atua na modulação do NO levando ao aumento do fluxo sanguíneo esquelético e cardíaco, do transporte de oxigênio, substratos metabólicos e hormônios (por exemplo da insulina), preservando os estoques de glicose intracelular do músculo esquelético e diminuição da função contrátil deste músculo;¹²¹ (4) estudos como o realizado por Goto et al.¹¹⁹ que mostram que exercícios aeróbios de intensidade moderada em seres humanos aumentam a vasodilatação endotelial através do aumento da produção do óxido nítrico; (5) apesar de uma grande quantidade de trabalhos existem ainda muitos aspectos obscuros e controversos em relação ao efeito do NO associado à atividade física que poderia ser influenciado por variações como genéticas, como é o caso do polimorfismo aqui investigado, que causariam viés na observação dos resultados destas pesquisas.

Pesquisas atuais evidenciaram também uma associação entre atividade física e o polimorfismo G894T da NOS3. Este é o caso do estudo que avaliou a *performance* de 443 atletas participantes do *South African Ironman Triathlon* associados ao polimorfismo da NOS3. No caso, atletas com o genótipo GG foram significativamente mais lentos que os atletas com os demais genótipos.¹⁶⁶ Sendo

assim, o estudo aqui proposto, ainda que exploratório, pode ser considerado cientificamente relevante, além de não existirem, até o momento da sua redação trabalhos similares observados na literatura nacional e internacional indexada.

Por que este polimorfismo poderia ser relevante na modulação dos níveis de NO? Pesquisas com análises moleculares, por ora realizadas, identificaram quatro polimorfismos importantes no gene da NOS3: dois localizados na região promotora do gene (um no íntron 11 e outro no exon 7). Vale recordar que os polimorfismos na região promotora podem interferir potencialmente na transcrição do mRNA (aumentando ou diminuindo a quantidade de enzima produzida). Ao contrário, o polimorfismo em uma região intrônica geralmente não afeta nem a forma e nem a função da enzima uma vez que a mesma não participa do mRNA que irá determinar a seqüência de incorporação de aminoácidos na proteína (enzima) sintetizada. Já polimorfismos em exons como é o caso do G894T alteram a seqüência protéica da enzima e podem, portanto, alterar sua atividade. Assim, além do que foi anteriormente comentado, e por existirem estudos que observaram associação positiva entre este polimorfismo e risco de doença coronariana, especialmente angina pectoris o mesmo foi escolhido como objeto do estudo aqui apresentado.

Considerando os resultados obtidos, a freqüência observada do alelo alterado T (0,345) encontrada na amostra foi comparada a estudos prévios publicados na literatura. No caso, a mesma apresenta similaridade com as descritas para populações caucasianas como pode ser visto na Tabela 12. Esta tabela sintetiza as freqüências genótípicas do polimorfismo obtidas a partir de 23 estudos publicados e indexados no PUBMED a partir de 1999. Infelizmente, ainda poucos estudos foram conduzidos em populações negras e asiáticas. Entretanto, nos trabalhos revisados os autores sugerem que a freqüência do genótipo TT é muito baixa em ambas as etnias variando de 0 a 2%.

Dois destes estudos recentemente publicados foram conduzidos em duas amostras grandes da população brasileira: um trabalho publicado por Pereira et al.¹⁶⁷ que avaliaram uma amostra com 1577 indivíduos e outro realizado por Marroni et al.¹⁶⁸ que avaliaram 290 indivíduos sendo 136 de etnia africana e 154 de etnia caucasiana. A amostra aqui investigada apresentou uma freqüência genotípica dos indivíduos TT de origem caucasiana praticamente igual à descrita por Marroni et al.¹⁷⁰ e muito próxima à descrita por Pereira et al.¹⁶⁹ Na Tabela 12 pode ser visto que as freqüências genótípicas

obtidas no presente estudo foram muito similares com freqüências descritas para populações européias (6 a 10%), cabe destacar que a composição étnica do Rio Grande Sul é fortemente influenciada pela colonização alemã e italiana. Dos trabalhos realizados nestas populações e apresentados na Tabela 12 pode-se inferir que as freqüências genotípicas, principalmente em relação ao genótipo TT também são similares.

Tabela 12 – Freqüências genotípicas do polimorfismo G894T descritas a partir de diferentes estudos populacionais

Ano	População	n	GG(%)	TT(%)	GT(%)
2006	Presente estudo	437	38,8	7,8	53,3
2006	Brasil ¹⁶⁹	1577	54,6	6,2	39,2
2006	Brasil ¹⁷⁰	C=154 N=136	42,2 71,3	7,8 1,5	50,0 27,2
2005	Itália ¹⁷¹	253	43,5	9,1	47,4
2005	Itália ¹⁷²	114	42,1	6,1	51,8
2005	Alemanha ¹⁷³	4219	49,2	8,8	42,0
2002	Alemanha ¹⁷⁴	533	48,0	9,4	42,6
2004	França ¹⁷⁵	49	45,0	10,0	45,0
1999	França ¹⁷⁶	68	47,1	10,3	42,6
2005	Holanda ¹⁷⁷	93	40,9	8,6	50,5
2005	EUA ¹⁷⁸	64	NI	15,5	NI
2005	EUA ¹⁷⁹	C = 12 N = 78	C = 47,0 N = 68,0	C = 12,0 N = 0,0	C = 42,0 N = 32,0
2004	EUA ¹⁸⁰	60	73,3	NI	NI
2004	EUA ¹⁸¹	C= 285 N = 118	C = 44,9 N = 76,3	NI	NI
2004	EUA ¹⁸²	C = 213 N = 306	NI	HC = 86,9 HN = 13,1 MC = 84,6 MN = 15,4	NI
2003	EUA ¹⁸³	73	73,0	NI	NI
2002	Japão ¹⁸⁴	233	84,1	0,9	15,0
2003	Irlanda ¹⁸⁵	357	42,0	9,5	48,5
2005	Hungria ¹⁸⁶	295	48,8	4,8	46,4
2005	Turquia ¹⁸⁷	83	68,7	2,4	28,9
2006	Grécia ¹⁸⁸	56	37,5	12,5	50,0
2005	Grécia ¹⁸⁹	228	NI	9,1	NI
2006	China ¹⁹⁰	NI	73,5	6,1	20,4
2006	Tunísia ¹⁹¹	120	45,0	11,0	44,0

n= tamanho da amostra investigada; Ref= referência do estudo; C= indivíduos caucasianos; N= indivíduos negros; HC= homens caucasianos; HN= homens negros; MC= mulheres caucasianas; MN= mulheres negras; NI= dado não informado no estudo.

6.4 O POLIMORFISMO G894T DA NOS3 E OS FATORES DE RISCO E MORBIDADES CARDIOVASCULARES

Quando a possível associação entre o polimorfismo da NOS3 e os indicadores de saúde cardiovascular foi investigada, a princípio, não foi observada nenhuma associação significativa. Esta não associação se manteve mesmo em análises adicionais onde se verificou um possível efeito de dose para os dois genótipos homocigóticos, TT x (GT+GG) e GG x (GT+TT).

Revisão da literatura mostrou que os resultados são controversos em estudos caso-controle comparando indivíduos saudáveis com os que apresentam doença arterial coronariana. Alguns trabalhos encontram associação^{190,191,172,192,187} e outros não encontram.^{193,194}

No estudo caso-controle feito por Kerkeni et al.¹⁹¹ em uma amostra de 120 indivíduos tunisianos saudáveis e 100 com doença coronariana os autores observaram que somente 4,2% dos saudáveis apresentavam o genótipo TT e que esta frequência estava duplicada nos doentes (11,0%) sendo estas diferenças estatisticamente significativas. Além disso, os indivíduos afetados com genótipos TT ou GT apresentaram uma frequência maior de hipercolesterolemia do que os demais.

Um outro estudo conduzido por Cam et al.¹⁸⁷ analisou a frequência do polimorfismo G894T em 115 pacientes turcos com doença arterial coronariana prematura e 83 controles. Neste trabalho também a frequência do alelo T foi significativamente maior nos afetados prematuramente por doença arterial coronariana do que nos controle (0,456 versus 0,169). No estudo a história familiar, tabagismo, diabetes, obesidade, dislipidemia e o genótipo TT da NOS3 foram fatores de risco independente para a doença coronariana.

Investigação com metodologia similar conduzida na China em 132 pacientes afetados e 175 pacientes saudáveis também encontrou associação com doença arterial coronariana. No caso a frequência do genótipo TT nos indivíduos afetados foi de 6,06% enquanto que no grupo controle a mesma era de 1,74%.¹⁹⁰ Resultados

similares para a população chinesa da etnia Han também foram descritos por Wei et al.¹⁹⁵

Um dos trabalhos caso-controle que não descreveu associação positiva entre o polimorfismo G894T da NOS3 foi o realizado na Austrália em 573 indivíduos caucasianos com idade inferior a 50 anos, que realizaram angiografia das coronárias e tinham ou não história prévia de IAM. O estudo também incluiu 624 indivíduos com e sem IAM sem história prévia de doença arterial coronariana. Nesse trabalho, que foi conduzido em uma amostra relativamente grande, não foi encontrada associação significativa entre o polimorfismo e doença arterial coronariana.¹⁹⁶ Dois motivos podem explicar esta não associação: baixo número de indivíduos afetados na amostra ou controle pós-evento de fatores de risco via medicação ou mudança no estilo de vida. Por este motivo seria precipitado afirmar a não ocorrência de associação entre doenças coronarianas e o polimorfismo da NOS3. Para tanto seria necessário o desenvolvimento de estudos complementares caso-controle ou longitudinais.

Possíveis fatores intervenientes devem atuar nesta associação destacando a influência étnica, outros fatores genéticos e/ou fatores ambientais. A literatura cita, por exemplo, possível efeito de interações genéticas na associação do polimorfismo da G894T com doenças cardiovasculares. Este é o caso do estudo conduzido na Turquia em que foi analisado concomitantemente o efeito de três polimorfismos de genes do sistema angiotensina-renina e o G894T da NOS3 em adultos jovens com doença arterial coronariana. Um total de 115 pacientes e 83 controles foram incluídos na investigação. No caso o risco de doença coronariana foi significativamente mais alto em pacientes com o genótipo DD do polimorfismo inserção/deleção (I/D) do gene da enzima conversora da angiotensina (ECA), com o polimorfismo do gene do angiotensinogênio (AGT) e com o genótipo TT do polimorfismo da NOS3 aqui investigado. No caso, portadores concomitantes dos genótipos DD da ECA, TT da NOS3 e AA do AGT apresentaram uma associação altamente significativa com doença arterial coronariana do que as demais combinações genotípicas. O estudo, portanto, indicou possível efeito sinérgico associado com a prematuridade da evolução da doença coronariana, nos pacientes investigados.¹⁹⁷

É preciso considerar que tanto o número de estudos quanto o tamanho amostral da grande maioria das investigações feitas até o presente momento são limitados. Por este motivo maiores investigações devem ser conduzidas para confirmar os achados por ora descritos. Por outro lado, outras investigações analisando interações adicionais gene-gene e gene-ambiente possuem relevância para o entendimento da modulação regulatória do NO e seu papel na cardiopatogênese. O trabalho aqui descrito enquadra-se nesta situação.

Adicionalmente não foi observada associação entre os três genótipos do polimorfismo investigado com tabagismo, HAS, dislipidemia e diabetes. Por outro lado, idosos portadores de pelo menos um alelo T apresentaram maior prevalência de obesidade em relação aos idosos GG.

É consenso que a obesidade é um fator de risco independente para o desenvolvimento da aterosclerose coronariana estando associada à disfunção endotelial.¹⁹⁸ Estudos recentes que têm produzido evidências que mostram presença de disfunção endotelial em indivíduos obesos sugerem que isto ocorra via baixa biodisponibilidade de NO.²⁰⁰

Infelizmente as relações entre obesidade e modulação de óxido nítrico ainda não são bem entendidas. Esta afirmativa é corroborada com a revisão da literatura sobre este tema. Quando cruzamos as palavras “nitric oxide and obesity” na base de dados MEDLINE foram identificados apenas 395 estudos. Destes, 194 tinham como amostra seres humanos, sendo que 98 eram revisões, outros 201 foram realizados em modelos experimentais, sendo que destes 50 também eram revisões. Uma grande parte destas investigações ainda está voltada ao entendimento do processo de regulação metabólica entre obesidade e produção de NO. Apenas um estudo em modelo experimental chamou atenção por investigar obesidade hereditária. O estudo foi realizado em ratos obesos Zucker selecionados para obesidade hereditária e mostrou que nos rins destes animais ocorre diminuição na produção de NOS3, NOS1, notável redução na produção de NO e glomerulosclerosis.¹⁹⁹

Dada a escassez de estudos sobre associação da obesidade com o polimorfismo G894T da NOS3, mas considerando a plausibilidade biológica de uma

possível explicação para tal associação, pode se inferir que o resultado aqui descrito é um dos primeiros sobre o tema.

6.5 EXISTE INFLUÊNCIA DE UMA POSSÍVEL INTERAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO G894T DA NOS3 E ATIVIDADE FÍSICA EM FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES DE IDOSOS?

Os dados, apesar da limitação do tamanho amostral, indicaram uma possível interação entre o polimorfismo G894T e atividade física na prevalência de riscos cardiovasculares em idosos. Uma vez que o estudo desenvolvido não foi do tipo caso-controle, infelizmente o número de idosos IA e SA não foi bem distribuído entre as categorias de atividade física. Além disto, a baixa frequência de portadores do alelo T, também contribuiu nas análises comparativas da interação. Isto porque na categoria de IA somente 03 mulheres foram incluídas e nenhum homem.

Por este motivo, a análise da interação entre a genética da NOS3 e a atividade física ficou restrita a grupo de idosos SA. No caso, quando os indivíduos IA foram excluídos da análise observou-se manutenção da associação do polimorfismo da G894T da NOS3 com a obesidade previamente detectada.

Surpreendentemente, quando os SA portadores de pelo menos um alelo T foram comparados com os GG a prevalência de HAS apresentou uma diminuição significativa no primeiro grupo (portadores do alelo T). Estes dois resultados originam uma intrincada questão: como o alelo T pode ao mesmo tempo estar relacionado com maior prevalência de obesidade e menor prevalência de HAS em idosos ativos?

É cabível destacar que existem evidências de que a atividade física estimula a produção de NOS3 e aumenta a liberação de NO via força de cisalhamento, o que, geralmente leva à diminuição da pressão arterial sistêmica. Porém, as respostas individuais para a redução da pressão sangüínea podem variar grandemente, o que faz com que ainda seja impossível predizer quanto o indivíduo irá reduzir sua pressão arterial sistêmica com o exercício. Por este motivo, a pesquisa envolvendo

polimorfismos genéticos e atividade física na modulação da pressão arterial precisa ser melhor investigada.

Em um destes estudos conduzido em participantes do *Heritage Family Study*²⁰⁰ relacionou-se o polimorfismo G894T da NOS3 com a diminuição da pressão arterial após treinamento por exercício estruturado. No estudo foram incluídos 471 indivíduos caucasianos submetidos a dois testes sub-máximos de 50 Watts antes e depois de um programa de treinamento de resistência aeróbia (*endurance*) com 20 semanas de duração. Antes de cada teste a pressão arterial foi medida duas vezes. Tanto a pressão sistólica quanto a diastólica a 50W diminuiu em resposta ao programa de treinamento, enquanto que a pressão em repouso permaneceu inalterada. A diminuição da pressão diastólica a 50 W foi maior nos homozigotos GG independente de idade, gênero, IMC e pressão diastólica basal do que nos GT e TT. Tanto os indivíduos GG quanto nos GT tiveram uma grande redução na pressão arterial induzida pelo treinamento, maior do que os TT.

Apesar de não ter utilizado o mesmo polimorfismo da NOS3 um estudo adicional foi conduzido em 832 japoneses saudáveis investigando o polimorfismo localizado no intron 4, T-786C com escore do nível de atividade física pela taxa metabólica basal. Somente nos indivíduos com o alelo raro CC a pressão arterial sistólica foi inversamente correlacionada com o nível de atividade física. Eventualmente este polimorfismo foi associado com prevalência de hipertensão sistólica em indivíduos que tinham baixo nível de atividade física. Assim, os autores concluíram que ocorreu interação significativa entre o genótipo e a atividade física nos valores pressóricos.

Com base nestes dois estudos e os resultados aqui obtidos pode-se dizer que existe forte sugestão de interação entre atividade física e o gene da NOS3. Entretanto, foi observado resultado inverso que o publicado na literatura, ou seja, os idosos TT ativos foram os que apresentaram menor prevalência de hipertensão. Uma hipótese que possivelmente explicaria este resultado seria a de que os idosos TT teriam um estilo de vida ativo o que levaria a uma exposição crônica aos benefícios da atividade física e que aqueles muito sedentários já teriam ou ido a óbito ou apresentado incapacidades que impediriam a sua participação nos grupos de terceira idade. Ou seja, levanta-se a hipótese de que tais idosos seriam

sobreviventes. A não detecção, neste trabalho, de idosos homens TT inativos e um baixo número de mulheres TT também inativas (10%) reforçam esta hipótese.

Quanto ao questionamento feito sobre a ocorrência como o alelo T pode ao mesmo tempo estar relacionado com maior prevalência de obesidade e menor prevalência de HAS em idosos ativos, talvez este seja explicável somente após ser acumulado uma maior quantidade de informações sobre a regulação metabólica do óxido nítrico no organismo.

De qualquer forma, é relevante comentar que, com base nas informações por ora obtidas, acredita-se que a relação obesidade, hipertensão, atividade física e genética da NOS3 envolva uma rede metabólica entre o sistema vascular-endotelial, o tecido adiposo e o tecido muscular-esquelético em que tanto a regulação do óxido nítrico, dos níveis de glicose e do metabolismo anti-oxidante fazem parte. Juntar estes processos em um modelo sistêmico e integrado é um quebra-cabeças que precisa ainda ser resolvido.

6.6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Por fim, é importante destacar que o estudo desenvolvido apresenta limitações entre as quais podem ser citadas:

- a) **Delineamento do estudo:** estudos transversais ou retrospectivos, como é o caso desta investigação, são metodologicamente limitados em relação a estudos longitudinais. Entretanto, pesquisas que envolvem polimorfismos genéticos podem, até certo ponto, serem consideradas com maior robustez, uma vez que o genótipo do indivíduo não muda ao longo da sua vida, o que significa que teoricamente a análise do mesmo em relação a variáveis como fatores de risco e morbidades cardiovasculares seria uma espécie de estudo de “coorte histórica” em que o estado de saúde do indivíduo é avaliado em um determinado momento em relação a uma situação anterior (no caso o genótipo que carrega desde o seu nascimento);

- b) **Tamanho amostral baixo:** os idosos selecionados na segunda etapa do estudo foram escolhidos aleatoriamente do banco de dados do Projeto GÊNESIS-Gravataí para realizarem as análises do IPAQ e demais testes, como exames biológicos e genéticos, a prevalência de riscos e morbidades cardiovasculares prévias não era conhecida antes de se investigar a associação destas variáveis com o polimorfismo da NOS3. Estudos como o aqui apresentado são economicamente dispendiosos e por tal motivo a agregação de diversos pesquisadores e especialistas no desenvolvimento de estudos populacionais, não só minimizam o custo, mas também o tempo aumentando a qualidade e a quantidade dos dados produzidos. É claro que, por outro lado, o tamanho amostral, necessariamente não é tão grande quanto poderia se desejar. Entretanto, na revisão de literatura feita no presente estudo, em uma grande maioria dos trabalhos consultados, tanto na área de atividade física quanto na da genética da NOS3 o tamanho da amostra era compatível com o aqui investigado. Isto não impede que existam limitações associadas ao número de indivíduos investigados, mas demonstra que, existe uma tendência mundial em desenvolver, inicialmente trabalhos exploratórios que servem como indicadores de resultados, para posteriormente desenvolver estudos com um número de indivíduos maior ou mesmo estudos multicêntricos;
- c) **Efeito de seleção de sobrevivência:** apesar da prevalência dos demais fatores de riscos cardiovasculares se aproximarem da descrita em outras populações de idosos, a carga de morbi-mortalidade de IAM é relativamente baixa. Assim é preciso considerar o efeito de seleção de sobrevivência destes idosos, já que possivelmente aqueles que tinham um maior conjunto de fatores de risco já devem ter previamente ido a óbito ou não participam ativamente de grupos de terceira idade. Esta afirmativa é reforçada por trabalhos e diretrizes de sociedades científicas nacionais e internacionais de que um dos fatores de riscos cardiovasculares clássicos bem estabelecidos é a inatividade física ou sedentarismo. Investigações mostram que o comportamento sedentário aumenta com a idade e é maior entre as minorias e entre aqueles com menor poder sócio-econômico. A inatividade física é um grande fator

de risco independente para DAC, em parte devido à sua influência desfavorável sobre as doenças e condições da Síndrome Metabólica (SM). A relação dose-resposta entre atividade física ou condicionamento físico e morte devido a doenças cardiovasculares tem-se apresentado inversamente proporcional em muitos estudos;

- d) **Doenças Prévias:** os idosos não foram avaliados quanto à existência de doenças prévias que pudessem alterar sua rotina diária de atividades físicas, tais como demências leves e pequenos problemas ósteo-articulares. Com isso eventuais discrepâncias podem ter havido no que diz respeito às respostas dadas quando do preenchimento do IPAQ, visto que essas doenças podem contribuir na diminuição das atividades físicas sem, no entanto causarem a incapacidade total dos avaliados, bem como prejudicar de forma importante sua participação nos grupos de convivência avaliados.

6.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mundo está vivendo o que se conhece como “sociedade do conhecimento”. Ou seja, as informações e o conhecimento produzido passam a serem aplicados na melhoria tecnológica ou das atividades humanas com a perspectiva de aumentar a qualidade de vida da população. Por este motivo, áreas antes distantes como a educação física e a genética molecular hoje se integram para subsidiar conhecimentos que, potencialmente, permitirão no futuro uma intervenção personalizada na saúde dos indivíduos e, por conseqüente, um envelhecimento saudável. O estudo aqui proposto, ainda que exploratório, com limitações e com muitas lacunas de informação, insere-se neste contexto.

7 CONCLUSÃO

Em idosos socialmente ativos (participantes de grupos de terceira idade) que foram investigados quanto à associação entre atividade física e o polimorfismo G894T da NOS3 na prevalência de fatores de risco e morbidades cardiovasculares podemos inferir que:

- a) a frequência genotípica do polimorfismo foi de GG=38,8%, TT=7,8% e GT=53,4% e a frequência alélica G=0,655 e T=0,3455 similares às descritas para populações caucasianas;
- b) a prevalência de IA foi de 21,8% e de SA de 78,2%;
- c) ocorreu associação entre o polimorfismo da NOS3 com a obesidade. No caso, indivíduos portadores de um alelo T apresentaram maior prevalência de obesidade que os GG. Os demais fatores de risco e morbidades cardiovasculares não foram significativamente associados com o polimorfismo genético;
- d) não ocorreu associação entre atividade física e os fatores de risco e morbidades cardiovasculares investigados;
- e) ocorreu interação do polimorfismo G894T da NOS3 e atividade física nos fatores de risco cardiovasculares. Os portadores do alelo T continuaram a apresentar maior prevalência de obesidade, e também apresentaram menor prevalência de hipertensão do que os GG.

REFERÊNCIAS

- 1 Chaimowickz F. A saúde dos idosos brasileiros às vésperas do século XXI: problemas, projeções e alternativas. *Revista de Saúde Pública*. 1997;2(31):184-200.
- 2 Cruz IBM. Envelhecimento populacional: panorama epidemiológico do Brasil e do Rio Grande do Sul. In: Jeckel EA, Cruz IBM. *Aspectos biológicos e geriátricos do envelhecimento*. Porto Alegre: EDIPUCRS; 2000. v. 2, p.175-92.
- 3 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [online]. [capturado 2005 mar.] Disponível em: <http://ibge.gov.br>
- 4 World Health Organization. Health Life Expectance (HALE) [online]. [capturado 2005 mar.] Disponível em: <http://www.who.org>
- 5 World Health Organization. Chronic disease information sheets: cardiovascular disease: prevention and control [online]. [capturado em 2006 maio] Disponível em: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/facts/cvd/en/>
- 6 Murray CJL, Lopez AD. *The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from disease, injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020*. USA:Harvard School of Health; 1996.
- 7 Polanczyk CA. Fatores de risco cardiovascular no Brasil: os próximos 50 anos. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2005;84(3): 199-201.
- 8 Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith SC Jr, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations. *Circulation*. 1999;100:1481-92.
- 9 Greenland P, Smith SC Jr, Grundy SM. Improving coronary heart disease risk assessment in asymptomatic people: role of traditional risk factors and noninvasive cardiovascular tests. *Circulation*. 2001;104:1863-7.
- 10 Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, et al. AHA guidelines for primary prevention of cardiovascular disease and stroke: 2002 update. *Circulation*. 2002;106:388.

- 11 David SK. Hypertension in ethnic populations: tailoring treatments: clinical cornerstone. *Hypertension in Hispanics*. 2005;6:39-49.
- 12 Kujala UM, Kaprio J, Sarna S, Koskenvuo M. Relationship of leisure-time physical activity and mortality: the Finnish twin cohort. *JAMA*. 1996;144:793-7.
- 13 Lolio CA, Laurenti R. Evolução da mortalidade por doença isquêmica do coração no município de São Paulo, 1970 a 1981. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 1986;46:153.
- 14 Avezum A, Piegas LS, Pereira JCR. Fatores de risco associados com infarto agudo do miocárdio na região metropolitana de São Paulo: uma região desenvolvida em um país em desenvolvimento. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2005 mar; 84(3);206-13.
- 15 Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA*. 2003 Aug 20;290(7):898-904.
- 16 Blair SN, Booth M, Gyarfás I, et al. Development of public policy and physical activity initiatives internationally. *Sports Med*. 1996;21:157-63.
- 17 Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C. Physical activity and public health: a recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA*. 1995;273:402-7.
- 18 Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Report*. 1985;100:126-31.
- 19 Lee IM, Rexrode KM, Cook NR, Manson JE, Buring JE. Physical activity and coronary heart disease in women: is "no pain, no gain" passe? *JAMA*. 2001;285:1447-54.
- 20 Berryman JW. Exercise and the medical tradition from Hippocrates through antebellum America: a review essay. In: Berryman JW, Park RJ, editors. *Sport and exercise science: essays in the history of sports medicine*. Urbana, IL: University of Illinois; 1992. p.1-56.

21 Blair SN, Kohl HW III, Paffenbarger RS Jr, Clark DG, Cooper KH, Gibbons LW. Physical fitness and all-cause mortality: a prospective study of healthy men and women. *Journal of the American Medical Association*. 1989;262:2395-401.

22 Bouchard C, Shephard RJ, Stephens T, editors. *Physical activity, fitness, and health: international proceedings and consensus statement*. Champaign, IL: Human Kinetics;1994.

23 Caspersen CJ. Physical activity epidemiology: concepts, methods, and applications to exercise science. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. 1989;17:423-73.

24 Pate RR, Pratt M, Blair SN, et al. Physical activity and public health: a recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *Journal of the American Medical Association*. 1995;273:402-7.

25 Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. *Physical Activity and Health: A report of the surgeon general* [online]. [capturado em 2005 set. 01] Disponível em: <http://www.cdc.org>

26 Burton NW, Turrell G. Occupation, hours worked and leisure-time physical activity. *Prev Med*. 2000; 31:673-81.

27 Martin SB, Morrow JR, Jackson AW, Dunn AL. Variables related to meeting the CDC/ACSM physical activity guidelines. *Med Sci Sports Exerc*. 2000; 32:2087-92.

28 Monteiro CA, Conde WL, Matsudo SM, Matsudo VR, Bonseñor IM, Lotufo PA. A descriptive epidemiology of leisure-time physical activity in Brazil, 1996-1997. *Rev Panam Salud Publica*. 2003;14:246-54.

29 Dias-da-Costa JS, Hallal PC, Wells JCK, et al. Epidemiology of leisure-time physical activity: a population-based study in southern Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 2005 jan./fev; 21(1):275-82.

30 Ransdell LB, Wells CL. Physical activity in urban white, African-American, and Mexican-American women. *Med Sci Sports Exerc*. 1998;27:1608-15.

31 Ford ES, Merrit RK, Heath GW, et al. Physical activity behaviors in lower and higher socioeconomic status populations. *Am J Epidemiol.* 1991;133:1246-56.

32 Burton NW, Turrell G. Occupation, hours worked and leisure-time physical activity. *Prev Med.* 2000;31:673-81.

33 McMurray RG, Ainsworth BE, Harrell JS, Griggs TR, Williams OD. Is physical activity or aerobic power more influential on reducing cardiovascular disease risk factors? *Med Sci Sports Exerc.* 1998;30:1521-9.

34 Base de dados MEDLINE [online]. [capturado em 2005 Jun. 4] disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

35 Rodriguez BL, Curb JD, Burchfiel CM, et al. Physical activity and 23-year incidence of coronary heart disease morbidity and mortality among middle-aged men: the Honolulu Heart Program. *Circulation.* 1994;89:2540-4.

36 Peel NM, McClure RJ, Bartlett HP. Behavioral determinants of healthy aging. *Am J Prev Med.* 2005 Apr;28(3):298-304.

37 Groot LC, Verheijden MW, Henauw S, Schroll M, van Staveren WA; SENECA Investigators. Lifestyle, nutritional status, health, and mortality in elderly people across Europe: a review of the longitudinal results of the SENECA study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2004 Dec;59(12):1277-84.

38 Newby PK, Dickman PW, Adami HO, Wolk A. Early anthropometric measures and reproductive factors as predictors of body mass index and obesity among older women. *Int J Obes (Lond).* 2005 Sep;29(9):1084-92.

39 O'donovan G, Owen A, Kearney EM, et al. Cardiovascular disease risk factors in habitual exercisers, lean sedentary men and abdominally obese sedentary men. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2005 May 31; [Epub ahead of print].

40 Wilmore JH, Costill DL. *Fisiologia do esporte e do exercício.* São Paulo: Manole; 2002.

41 Bassenge E. Endothelial function in different organs. *Prog Cardiovasc Dis.* 1996; 39:209-28.

42 Malinski T. Understanding nitric oxide physiology in the heart: a nanomedical approach. *Am J Cardiol*. 2005 Oct 10;96(7B):13i-24i. Epub 2005 Aug 8. Review.

43 Alfieri AB. Óxido nítrico: estudios sobre su papel como mediador en diversas funciones fisiológicas y fisiopatológicas. *Vitae: Academia Biomédica Digital [periódico online]*. 2003(16):1-57. [capturado em 2006 jan. 20] Disponível em: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/autor?codigo=708970>

44 Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980 Nov 27;288(5789):373-6.

45 Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and veins is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci*. 1987;84:9265-9.

46 Furchgott RF, Carvalho MH, Khan MT, Matsunaga K. Evidence for endothelium dependent vasodilation of resistance vessels by acetylcholine. *Blood Vessels*. 1987;24(3):145-9.

47 Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: a pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol*. 1989; 38:1709-15.

48 Vallance P, Collier J. Fortnightly review Biology and clinical relevance of nitric oxide. *BMJ*. 1994;309(6952):453-7.

49 Calver A, Collier J, Vallance P. Nitric oxide and the control of human vascular tone in health and disease. *Eur J Med*. 1993;2(1):48-53.

50 Dusting GJ. Nitric oxide in cardiovascular disorders. *J Vasc Res*. 1995;32:143-161.

51 Hibbs JB Jr. Synthesis of nitric oxide from L-arginine: a recently discovered pathway induced by cytokines with antitumour and antimicrobial activity. *Res Immunol*. 1991;142(7):565-9;discussion 596-598.

52 Rhodes P, Leone AM, Francis PL, Struthers AD, Moncada S, Rhodes PM. The L-arginine:nitric oxide pathway is the major source of plasma nitrite in fasted humans. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995 Apr 17;209(2):590-6.

- 53 Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298YAsp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation*. 1999;100:1515-20.
- 54 Gosgnach W, Messika-Zeitoun D, Gonzalez W, Philippe M, Michel JB. Shear stress induces iNOS expression in cultured smooth muscle cells: role of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000;279(6):C1880-8.
- 55 Lamontagne D, Pohl U, Busse R. Mechanical deformation of vessel wall and shear stress determine the basal release of endothelium-derived relaxing factor in the intact rabbit coronary vascular bed. *Circ Res*. 1992;70(1):123-30.
- 56 Nishida K, Harrison DG, Navas JP, et al. Molecular cloning and characterization of the constitutive bovine aortic endothelial cell nitric oxide synthase. *J Clin Invest*. 1992;90(5):2092-6.
- 57 Gratton JP, Lin MI, Yu J, et al. Selective inhibition of tumor microvascular permeability by cavtratin blocks tumor progression in mice. *Cancer Cell*. 2003;4: 31-9.
- 58 Sessa WC. Regulation of endothelial derived nitric oxide in health and disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100 Suppl. 1:15-8.
- 59 Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *J Cell Mol Life Sci*. 1999;55,1078-87.
- 60 Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26:1235-41.
- 61 Jones LC, Hingorani AD. Genetic regulation of endothelial function. *Heart*. 2005;91:1275-7.
- 62 Vallance P, Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart*. 2001;85:342-50.
- 63 Ludmer P, Selwyn A, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986;315:1046-51.

- 64 White CR, Brock TA, Chang L-Y, et al. Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:1044-8.
- 65 Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature*. 1986;320:454-6.
- 66 Harrison DG, Ohara Y. Physiologic consequences of increased vascular oxidant stresses in hypercholesterolemia and atherosclerosis: implications for impaired vasomotion. *Am J Cardiol*. 1995;75:75B-81B.
- 67 Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104:2673-8.
- 68 Guzik TJ, West N, Pillai R, Taggart D, Channon KM. Nitric oxide modulates superoxide release and peroxynitrite formation in human blood vessels. *Hypertension*. 2002;39:1088-94.
- 69 Channon KM, Guzik TJ. Mechanisms of Superoxide Production in Human Blood Vessels: Relationship to Endothelial Dysfunction, Clinical and Genetic Risk Factors. *J Physiol and Pharmacol*. 2002;53(4 Pt 1):515-24.
- 70 Ballinger SW, Patterson C, Yan CN, et al. Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Circ Res*. 2000;86:960-6.
- 71 Wu M, Pritchard KA, Jr., Kaminski PM, Fayngersh RP, Hintze TH, Wolin MS. Involvement of nitric oxide and nitrosothiols in relaxation of pulmonary arteries to peroxynitrite. *Am J Physiol*. 1994;266:H2108-13.
- 72 Moro MA, Darley-Usmar VM, Goodwin DA, et al. Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:6702-6.
- 73 Wang HD, Pagano PJ, Du Y, et al. Superoxide anion from the adventitia of the rat thoracic aorta inactivates nitric oxide. *Circ Res*. 1998;82:810-8.
- 74 Miller FJ, Jr., Gutterman DD, Rios CD, Heistad DD, Davidson BL. Superoxide production in vascular smooth muscle contributes to oxidative stress and impaired relaxation in atherosclerosis. *Circ Res*. 1998;82:1298-305.

75 Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. 1993;362:801-9.

76 Jacobs M, Plane F, Bruckdorfer KR. Native and oxidized low-density lipoproteins have different inhibitory effects on endothelium-derived relaxing factor in the rabbit aorta. *Br J Pharmacol*. 1990;100:21-6.

77 Galle J, Mulsch A, Busse R, Bassenge E. Effects of native and oxidized low density lipoproteins on formation and inactivation of endothelium-derived relaxing factor. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:198-203.

78 Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J Clin Invest*. 1997;100:2153-7.

79 Wever R, Stoes E, Rabelink TJ. Nitric oxide and hypercholesterolemia: a matter of oxidation and reduction? *Atherosclerosis*. 1998;137 Suppl:51s–60s.

80 Feron O, Dessy C, Moniotte S, Desager J-P, Balligand J-L. Hypercholesterolemia decreases nitric oxide production by promoting the interaction of caveolin and endothelial nitric oxide synthase. *J Clin Invest*. 1999 March 15;103(6):897-905.

81 Qian HS, Neplioueva V, Shetty GA, Channon KM, George SE. Nitric Oxide Synthase Gene Therapy Rapidly Reduces Adhesion Molecule Expression and Inflammatory Cell Infiltration in Carotid Arteries of Cholesterol-Fed Rabbits. *Circulation*. 1999;99:2979-82.

82 Channon KM, Qian HS, Blazing MA, et al. In vivo gene transfer of nitric oxide synthase enhances vasomotor function in carotid arteries from normal and cholesterol-fed rabbits. *Circulation*. 1998;98:1905-11.

83 Wajchenberg BL. Disfunção endotelial no diabetes do tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002 Out;46(5).

84 Cossentino F, Hishikawa K, Katusik ZS, Lüscher TF. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. *Circulation*. 1997;96:25-8.

85 Calles-Escandon J, Cippola M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev*. 2001;22:36-52.

86 Makimattila S, Liu M-L, Vakkilainen J, et al. Impaired endotheliumdependent vasodilatation in type 2 diabetes. Relation to LDL size, oxidized LDL, and antioxidants. *Diabetes Care*. 1999;22:973-81.

87 Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD: Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent: a novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest*. 1994;94:1172 -79.

88 Petrie JR, Ueda S, Webb DJ, Elliott HL, Connell JMC: Endothelial nitric oxide production and insulin sensitivity: a physiological link with implications for pathogenesis of cardiovascular disease. *Circulation*. 1996;93:1331-3.

89 Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP: Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1983;67:968 -77.

90 Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, et al. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med*. 1990;322:882-9.

91 Van Itallie TB: Health implications of overweight and obesity in the United States. *Ann Intern Med*. 1985;103:983-8.

92 Bohlen HG, Lash JM. Endothelial-dependent vasodilation is preserved in non-insulin-dependent Zucker fatty diabetic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1995;268: H2366-74.

93 Jin JS, Bohlen HG. Non-insulin-dependent diabetes and hyperglycemia impair rat intestinal flow-mediated regulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1997;272: H728-34.

94 Bohlen HG, Nase GP. Obesity lowers hyperglycemic threshold for impaired in vivo endothelial nitric oxide function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283: H391-7.

95 Luscher TF, Noll G. The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. *Atherosclerosis*. 1995;118 Suppl:S81-90.

96 Berrazueta JR. Implicaciones del óxido nítrico en la fisiopatología y la terapéutica de la hipertensión arterial. In: *La vía de L-arginina: óxido nítrico, de su descubrimiento a sus aplicaciones clínicas*. Quito: Ed. Científicas; 1995. p. 51-88.

- 97 Breslow MJ, Tobin JR, Bredt DS, Ferris CD, Snyder SH, Traystman RJ. Nitric oxide as a regulator of adrenal blood flow. *Am J Physiol.* 1993;264(2 Pt 2):H464-9.
- 98 Brady F, Bakhle YS, Bell C. Evaluation of the involvement of nitric oxide and substance P in reducing baroreflex gain in the genetically hypertensive (GH) rat. *Acta Physiol Hung.* 2002;89(4):451-61.
- 99 Gardiner SM, Compton AM, Bennet T, Palmer RMJ y Moncada, S. Regional haemodynamic changes during oral ingestion of N-monometil-L-arginine or N-nitro-L-arginine methylester in conscious Brattleboro rats. *Br J Pharmacol.* 1990;101:10-2.
- 100 Vallance P. Nitric oxide in the human cardiovascular system. *Br J Clin Pharmacol.* 1998;45(5):433-9.
- 101 Huynh NT, Tayek JA. Oral arginine reduces systemic blood pressure in type 2 diabetes: its potential role in nitric oxide generation. *J Am Coll Nutr.* 2002;21(5):422-7.
- 102 Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991;43:109-42.
- 103 Calver A, Collier J, Vallance P. Nitric oxide and the control of human vascular tone in health and disease. *Eur J Med.* 1993;2(1):48-53.
- 104 Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med.* 1993;329(27):2002-12.
- 105 Forte P, Copland M, Smith LM, Milne E, Sutherland J, Benjamin N. Basal nitric oxide synthase in essential hypertension. *Lancet.* 1997;349:837-42.
- 106 Huang PL, Huang Z, Mashimo H, et al. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature.* 1995;377:239-42.
- 107 Ikenaka H, Suzuki H, Ishii H, Itohl I, Saruta T. Role of NO on pressure natriuresis in Wistar-Kyoto rats and spontaneously hypertensive rats. *Kidney Int.* 1993;43:205-11.

- 108 Patel AR, Granger JP, Kirchner KA. L-arginine improves transmission of perfusion pressure to the renal interstitium in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Physiol.* 1994;266(6 Pt 2):R1730-5.
- 109 Chen PY, Sanders PW. L-arginine abrogates salt-sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J Clin Invest.* 1991;88(5):1559-67.
- 110 Miyaki K, Tohyama S, Murata M, et al. Salt Intake Affects the Relation Between Hypertension and the T-786C Polymorphism in the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene. *AJH.* 2005;18:1556-62.
- 111 Peters RK, Cady LD Jr, Bischoff, Bernstein L, Pike MC. Physical fitness and subsequent myocardial infarction in healthy workers. *JAMA.* 1983;249:3052-6.
- 112 Blair SN, Kohl HW III, Barlow CE, Paffenbarger RS Jr, Gibbons LW, Macera CA. Changes in physical fitness and all-cause mortality. *JAMA.* 1995;273:1093-8.
- 113 Blair SN, Kampert JB, Kohl HW III, Barlow CE, Macera CA, Paffenbarger RS. Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular disease and all-cause mortality in men and women. *JAMA.* 1996;276:205-10.
- 114 Schul R. La familia de las enzimas sintetizadoras de óxido nítrico. En: La vía de L-arginina: óxido nítrico, de su descubrimiento a sus aplicaciones clínicas. Quito: Ed. Científicas; 1995. p. 23-50.
- 115 Bode-Boger SM, Boger RH, Schroder EP, Frolich JC. Exercise increases systemic nitric oxide production in men. *J Cardiovasc Risk.* 1994;1:173-8.
- 116 Sessa WC, Pritchard KA Jr., Seyedi N, Wang J, Hintze TH. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res.* 1994;74:349-53.
- 117 Gewaltig MT, Kojda G. Vasoprotection by nitric oxide: mechanisms and therapeutic potential. *Cardiovasc Res.* 2002;55:250-60.
- 118 Suvorava T, Lauer N, Kojda G. Physical Inactivity Causes Endothelial Dysfunction in Healthy Young Mice 1321. *JACC.* 2004 Sept 15;44(6):1320-7.
- 119 Goto C, Higashi Y, Kimura M, et al. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation.* 2003 Aug 5;108(5):530-5. Epub 2003 Jul 21.

120 Bergholm R, Makimatila S, Valkonen M, et al. Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilation in vivo. *Atherosclerosis*. 1999;145:341-9.

121 Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB J*. 2000 Sep;14(12):1685-96.

122 Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem*. 1993;268:17478-88.

123 Wang XL Wang J. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Sequence Variations and Vascular Disease. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2000;70:241-51.

124 Cruz IBM, Schwanke CHA, Flores GAF, et al. Projeto Gravataí, um estudo longitudinal e interdisciplinar sobre o envelhecimento: descrição da escolha do município. *Revista de Medicina da PUC/RS*. 2003;13(4):383-92.

125 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) [online]. [capturado em 2002] Disponível em: www.ibge.gov.br

126 Sistema de Informação Sobre Mortalidade (SIM) [online]. [capturado em 2002] Disponível em: www.datasus.br.

127 Fundação Estadual de Economia e Estatística do Rio Grande do Sul (FEEE) [online]. [capturado em 2002] Disponível em: www.feee.gov.br.

128 Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul [online]. [capturado em 2002] Disponível em: www.saude.tche.gov.br

129 Skzio, M. Population-based cohort studies. *Epidemiol Rev*. 1998;20:81-90.

130 Flores GLF, Cruz AAM, Taufer M, et al. Indicadores de saúde dos idosos participantes do Projeto Gravataí-RS. *Revista de Medicina da PUC/RS*. 2003;13(4):393-9.

131 Willians TF. Avaliação geriátrica global. In: Calkins E, Ford AB, Katz PR. *Geriatría prática*. Rio de Janeiro: Revinter; 1997. p. 117-25.

132 Sociedade Brasileira de Cardiologia e Sociedade Brasileira de Nefrologia. III Consenso Brasileiro de Hipertensão da Sociedade Brasileira de Hipertensão. Rev Bras Cardiol. 1998;1(3):92-133.

133 Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da aterosclerose. Arq Bras Cardiol. 2001;7(3):1-48.

134 Cruz AM, Flores GAL, Taufer M, Nascimento DR, Glock L, Cruz IBM. Elderly physical activity and health profile in two communities from Southern Brazilian Region. Rev Esp Geriatr Gerontol. 2003;38(1):188-90.

135 Fundação Estadual de Economia e Estatística do Estado do Rio Grande do Sul (FEE). Expectativas de vida ao nascer para o ano de 2000 [online]. [capturado em 2005 maio] Disponível em: <http://www.fee.tche.br>

136 Dados do Sistema Único de Saúde – DATASUS [online]. [capturado em 2005 maio]. <http://www.datasus.gov.br>

137 World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic (report of a WHO consultation on obesity). Geneva: World Health Organization; 1997.

138 Bjorntorp P. Metabolic implications of body fat distribution. Diabetes Care. 1991;14:1132-43.

139 Baumgartner RN, Chumlea WC, Roche AF. Bioelectric impedance phase angle and body composition. Am J Clin Nutr. 1988;48:16-23.

140 Lemieux S, Despres JP, Moorjani S, et al. Are gender differences in cardiovascular disease risk factors explained by the level of visceral adipose tissue? Diabetology. 1994 Aug;37:757-64.

141 Brandão AP, Brandão AA, Freitas EV, Magalhães MEC, Pozzan R. Hipertensão arterial no idoso. In: Freitas EV et al. Tratado de Geriatria e Gerontologia. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2002. p. 249-62.

142 Tonks DB. Quality control in Clinical Laboratories. Canadá: Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagent Division, Scarborough; 1972.

143 Giannini SD. Aterosclerose e dislipidemias. São Paulo: BG Cultural; 1998.

144 Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 1997;20:1183-97.

145 Marshal A, Bauman A. The International Physical Activity Questionnaire: Summary Report of the Reliability & Validity Studies. Produzido pelo Comitê Executivo do IPAQ. DRAFT IPAQ – Summary; March, 2001.

146 Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, et al. International Physical Activity Questionnaire: 12-Country Reliability and Validity. Med Sci Sports Exerc. 2003; 35(8):1381-95.

147 Baretta E. Nível de Atividade Física e Fatores Associados em Indivíduos Adultos de um Município de Pequeno Porte do Sul do Brasil: um estudo de base populacional [dissertação]. Joaçaba (SC): Universidade do Oeste de Santa Catarina; 2005

148 Lahiri DK, Nurnberger Jr JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. Nucleic Acids Research. 1991; 19(19):5444.

149 Waaser-Smoller S. Biostatistics and epidemiology. 2nd ed. New York: Spriger-Verlag; 1995.

150 Benedetti TRB. Atividade Física: Uma Perspectiva de Promoção da Saúde do Idoso no Município de Florianópolis. 2005. Rev Bras de Cineantropometria & Desemp Humano. 2005;116(2);116.

151 Custodio DC, Silva MS, Freire PCM. Avaliação da composição corporal de idosos praticantes de hidroginástica em Goiânia. In: Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão da UFG - Conpeex, 2., 2005, Goiânia. Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica [CD-ROM]. Goiânia: UFG; 2005.

152 Silva AC. Atividade Física Habitual e Saúde Multidimensional de Idosos na Cidade de Goiânia [dissertação]. Florianópolis: UFSC; 2005. [capturado em 2006 maio 10] Disponível em: <http://www.cds.ufsc.br/mestrado/TESE%20Andrea%20Cintia%20da%20Silva%20defendida%20em%2023%20fev%202005.pdf>

153 Mazo GZ, Mota J, Goncalves LHT, et al. Nível de atividade física, condições de saúde e características sócio-demográficas de mulheres idosas brasileiras. Rev Port. Cien Desp. 2005 maio; 5(2):202-12.

154 Benedetti TB, Mazo GZ, Gomes MVB. Aplicação do Questionário Internacional de Atividades Físicas para avaliação do nível de atividades físicas de mulheres idosas: validade concorrente e reprodutibilidade teste-reteste. Rev Bras Cien e Mov. 2004 jan/mar;12(1)25-34.

155 American College of Sports Medicine. Exercise & Hypertension POSITION STAND [online]. Mar. 2004. [capturado em 2006 maio 01] Disponível em: <http://www.acsm-msse.org/>

156 Ferreira MS, Najjar AL. Programs and campaigns to promote physical activity. Ciênc. Saúde Coletiva. 2005 set./dec; 10 suppl: 207-19.

157 Duncan BB, Schmidt MI, Polanczyk CA, Homrich CS, Rosa RS, Achutti AC. Fatores de risco para doenças não-transmissíveis em área metropolitana na região Sul do país: prevalência e simultaneidade. Revista de Saúde Pública. 1993. 27(1):143-8.

158 Cabrera MAS, Jacob Filho W. Obesidade em idosos: prevalência, distribuição e associação com hábitos e co-morbidades. Arq Bras Endocrinol Metab. 2001 Oct;45(5)494-501.

159 Ukoli FA, Bunker CH, Fabio A, Olomu AB, Egbagbe EE, Kuller LHI. Body fat distribution and other anthropometric blood pressure correlates in a Nigerian urban elderly population. Cent J Méd. 1995;41(5):154-61.

160 Velazquez-Alva MDC, Castillo ML, Camacho EI, Zepeda MAS, Robledo LMG, Moysen PC. Estudio antropométrico en un grupo de hombres y Mujeres de la tercera edad en la Ciudad de Mexico. Salud Publ Mex. 1996;38:466-74.

161 Ostir GV, Markides KS, Freeman DH Jr, Goodwin JS. Obesity and health conditions in elderly Mexican Americans: the Hispanic EPESE. Established Population for Epidemiologic Studies of the Elderly. Ethnic Dis 2000;10(1):31-8.

162 Euronut SENECA investigators. Nutritional status: anthropometry. Eur J Clin Nutr. 1991;45(45s3):31-42.

163 Sociedade Brasileira de Cardiologia e Sociedade Brasileira de Nefrologia. III Consenso Brasileiro de Hipertensão Arterial. [capturado em 2006 maio 01] Disponível em: <http://www.sbn.org.br/Diretrizes/cbha6.htm>.

164 Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Inquérito geral de agravos e doenças não transmissíveis [online]. Brasília: CONPREV/INCA/Ministério da Saúde; 2002-2003. [capturado em 2006 maio 01] Disponível em: http://www.inca.gov.br/inquerito/docs/isquemias_coracao.pdf

165 Hingorani AD. Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase and atherogenesis: John French Lecture 2000. *Atherosclerosis*. 2001;154:521–7.

166 Saunders CJ, Xenophontos SL, Cariolou MA, Anastassiades LC, Noakes TD, Collins M. The bradykinin {beta}2 receptor (BDKRB2) and endothelial nitric oxide synthase 3 (NOS3) genes and endurance performance during Ironman Triathlons. *Hum Mol Genet*. 2006 Mar 15;15(6):979-87. Epub 2006 Feb 6.

167 Pereira AC, Sposito AC, Mota GF, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene variant modulates the relationship between serum cholesterol levels and blood pressure in the general population: new evidence for a direct effect of lipids in arterial blood pressure. *Atherosclerosis*. 2006 Jan;184(1):193-200.

168 Marroni AS, Metzger IF, Souza-Costa DC, et al. Consistent interethnic differences in the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide synthase genetic polymorphisms. *Nitric Oxide*. 2005 May;12(3):177-82.

169 Guidi I, Galimberti D, Venturelli E, et al. Influence of the Glu298Asp polymorphism of NOS3 on age at onset and homocysteine levels in AD patients. *Neurobiol Aging*. 2005 Jun;26(6):789-94.

170 Colombo MG, Andreassi MG, Paradossi U, et al. Evidence for association of a common variant of the endothelial nitric oxide synthase gene (Glu298-->Asp polymorphism) to the presence, extent, and severity of coronary artery disease. *Heart*. 2002 Jun;87(6):525-8.

171 Wolff B, Grabe HJ, Schluter C, et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism, blood pressure and hypertension in a general population sample. *J Hypertens*. 2005 Jul;23(7):1361-6.

172 Gardemann A, Lohre J, Cayci S, Katz N, Tillmanns H, Haberbosch W. The T allele of the missense Glu(298)Asp endothelial nitric oxide synthase gene

polymorphism is associated with coronary heart disease in younger individuals with high atherosclerotic risk profile. *Atherosclerosis*. 2002 Jan;160(1):167-75.

173 Allanore Y, Borderie D, Lemarechal H, Ekindjian OG, Kahan A. Lack of association of eNOS (G894T) and p22phox NADPH oxidase subunit (C242T) polymorphisms with systemic sclerosis in a cohort of French Caucasian patients. *Clin Chim Acta*. 2004 Dec;350(1-2):51-5.

174 Philip I, Plantefevre G, Vuillaumier-Barrot S, et al. G894T polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with an enhanced vascular responsiveness to phenylephrine. *Circulation*. 1999 Jun 22;99(24):3096-8.

175 Henskens LHG, Kroon AA, Boxtel MPJ van, Hofman PAM, Leeuw PW de. Associations of the Angiotensin II Type 1 Receptor A1166C and the Endothelial NO Synthase G894T Gene Polymorphisms With Silent Subcortical White Matter Lesions in Essential Hypertension. *Stroke*. 2005 Sept;36(9):1869-73.

176 Lapu-Bula R, Quarshie A, Lyn D, et al. The 894T allele of endothelial nitric oxide synthase gene is related to left ventricular mass in African Americans with high-normal blood pressure. *J Natl Med Assoc*. 2005 Feb;97(2):197-205.

177 Howard TD, Giles WH, Xu J, et al. Promoter polymorphisms in the nitric oxide synthase 3 gene are associated with ischemic stroke susceptibility in young black women. *Stroke*. 2005 Sept;36(9):1848-51. Epub 2005 Aug 11.

178 Li R, Lyn D, Lapu-Bula R, et al. Relation of endothelial nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide level, endothelial function, and blood pressure in African Americans. *Am J Hypertens*. 2004 July;17(7):560-7.

179 Chen W, Srinivasan SR, Bond MG, et al. Nitric oxide synthase gene polymorphism (G894T) influences arterial stiffness in adults: The Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens*. 2004 Jul;17(7):553-9.

180 Chen W, Srinivasan SR, Li S, Boerwinkle E, Berenson GS. Gender-specific influence of NO synthase gene on blood pressure since childhood: the Bogalusa Heart Study. *Hypertension*. 2004 Nov;44(5):668-73. Epub 2004 Oct 4.

181 Gravesande KS van 's, Wechsler ME, Grasemann H, et al. Association of a missense mutation in the NOS3 gene with exhaled nitric oxide levels. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 May; 168:228-31. Epub 2003 May 8.

182 Ohtoshi K, Yamasaki Y, Gorogawa S, et al. Association of (-)786T-C mutation of endothelial nitric oxide synthase gene with insulin resistance. *Diabetologia*. 2002 Nov;45(11):1594-601. Epub 2002 Oct 9.

183 Brown KS, Kluijtmans LA, Young IS, et al. Genetic evidence that nitric oxide modulates homocysteine: the NOS3 894TT genotype is a risk factor for hyperhomocystenemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Jun 1;23(6):1014-20. Epub 2003 Apr 10.

184 Szolnoki Z, Havasi V, Bene J, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene interactions and the risk of ischaemic stroke. *Acta Neurol Scand*. 2005 Jan;111(1):29-33.

185 Cam SF, Sekuri C, Tengiz I, et al. The G894T polymorphism on endothelial nitric oxide synthase gene is associated with premature coronary artery disease in a Turkish population. *Thromb Res*. 2005;116(4):287-92. Epub 2005 Jan 16.

186 Antoniadou C, Tousoulis D, Vasiliadou C, et al. Genetic polymorphisms G894T on the eNOS gene is associated with endothelial function and vWF levels in premature myocardial infarction survivors. *Int J Cardiol*. 2006 Feb 8;107(1):95-100.

187 Antoniadou C, Tousoulis D, Vasiliadou C, et al. Genetic polymorphism on endothelial nitric oxide synthase affects endothelial activation and inflammatory response during the acute phase of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Sep 20;46(6):1101-9.

188 Jia CQ, Ning Y, Liu TT, Liu ZL. Association between G894T mutation in endothelial nitric oxide synthase gene and premature coronary heart disease. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2005 Jan;26(1):51-3.

189 Kerkeni M, Addad F, Chauffert M, et al. Hyperhomocysteinemia, endothelial nitric oxide synthase polymorphism, and risk of coronary artery disease. *Clin Chem*. 2006 Jan;52(1):53-8. Epub 2005 Nov 10.

190 Dosenko VE, Lutai IaM, Zagorii Vlu, Parkhomenko AN, Moibenko AA. Frequencies of allelic polymorphism of endothelial NO-synthase gene in patients with acute coronary syndrome in Ukrainian population. *Tsitol Genet*. 2005 Mar./Apr;39(2):49-54.

- 191 Park KW, You KH, Oh S, et al. Association of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene polymorphism with acute coronary syndrome in Koreans. *Heart*. 2004 Mar;90(3):282-5.
- 192 Rao S, Austin H, Davidoff MN, Zafari AM. Endothelial nitric oxide synthase intron 4 polymorphism is a marker for coronary artery disease in African-American and Caucasian men. *Ethn Dis*. 2005 Spring;15(2):191-7.
- 193 Milutinovic A, Hruskovicova H. The eNOS gene polymorphism does not have a major impact on lipid parameters and premature coronary artery disease in Slovene men (Caucasians). *Folia Biol (Praha)*. 2005;51(2):47-9.
- 194 Jaramillo PC, Munoz M A, Lanas M C, Lanas Z F, Salazar LA. Endothelial nitric oxide synthase G894T gene polymorphism in Chilean subjects with coronary artery disease and controls. *Clin Chim Acta*. 2006 Mar 2. [Epub ahead of print].
- 195 Wei D, Shan J, Chen Z, Shi Y. The G894T mutation of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary atherosclerotic heart disease in Chinese. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2002 Dec;19(6):471-4.
- 196 Granath B, Taylor RR, van Bockxmeer FM, Mamotte CD. Lack of evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and coronary artery disease in the Australian Caucasian population. *J Cardiovasc Risk*. 2001 Aug;8(4):235-41.
- 197 Berdeli A, Sekuri C, Sirri CF, et al. Association between the eNOS (Glu298Asp) and the RAS genes polymorphisms and premature coronary artery disease in a Turkish population. *Clin Chim Acta*. 2005 Jan;351(1-2):87-94.
- 198 Williams IL, Wheatcroft SB, Shah AM, Kearney MT. Obesity, atherosclerosis and the vascular endothelium: mechanisms of reduced nitric oxide bioavailability in obese humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 Jun;26(6):754-64.
- 199 Li Z, Rodriguez-Iturbe B, Ni Z, Shahkarami A, Sepassi L, Vaziri ND. Effect of hereditary obesity on renal expressions of NO synthase, caveolin-1, AKt, guanylate cyclase, and calmodulin. *Kidney Int*. 2005 Dec;68(6):2766-72.
- 200 Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, et al. The HERITAGE Family Study NOS3 Glu298Asp genotype and blood pressure response to endurance. *Hypertension*. 2000;36:885-9.

APÊNDICE A

Evolução no número de trabalhos publicados realizados em idosos (>65 anos), no período de 1980 a 2005 associando atividade física e doenças geriátricas a partir da base de dados do MEDLINE.

Morbidades	80-85	86-90	91-95	96-00	01-05	Total
	n	n	n	n	n	n (%)
Sarcopenia	0	0	3	12	27	42 (1)
Acidente vaso encefálico	19	30	78	161	228	516 (10)
Infarto agudo do miocárdio	156	126	200	251	275	1008 (19)
Osteoporose	15	42	69	127	127	380 (7)
Neoplasias	10	35	94	227	312	678 (13)
Demências	27	36	86	149	227	525 (10)
Risco Cardiovascular	73	138	347	610	933	2101 (40)
Total	300	407	877	1537	2129	5250

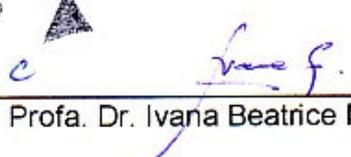
APÊNDICE B

AUTORIZAÇÃO

Eu, Ivana Beatrice Manica da Cruz, RG 8017462709, venho por meio desta AUTORIZAR o Prof. LUCIANO CASTRO a utilizar dados retrospectivos do PROJETO GRAVATAI do qual era coordenadora, no projeto denominado **“ANÁLISE DA INTERAÇÃO ENTRE ATIVIDADE FÍSICA REGULAR POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO E RISCOS CARDIOVASCULARES”**. Na ocasião aproveito para destacar que o referido professor auxiliou em parte da coleta dos dados junto a outros pesquisadores.

Porto Alegre, 22 de dezembro de 2005.

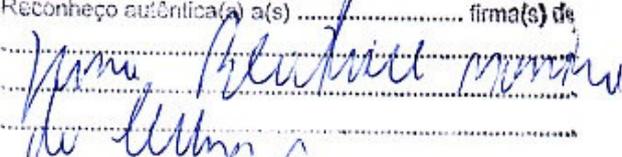
6.º TABELIONATO
Porto Alegre



Prof.a Dr. Ivana Beatrice Manica da Cruz

6.º TABELIONATO

Reconheço autêntica(s) a(s) firma(s) de


.....
.....

..... 255255211 is.

..... da verdade.

.....

..... Substituto,

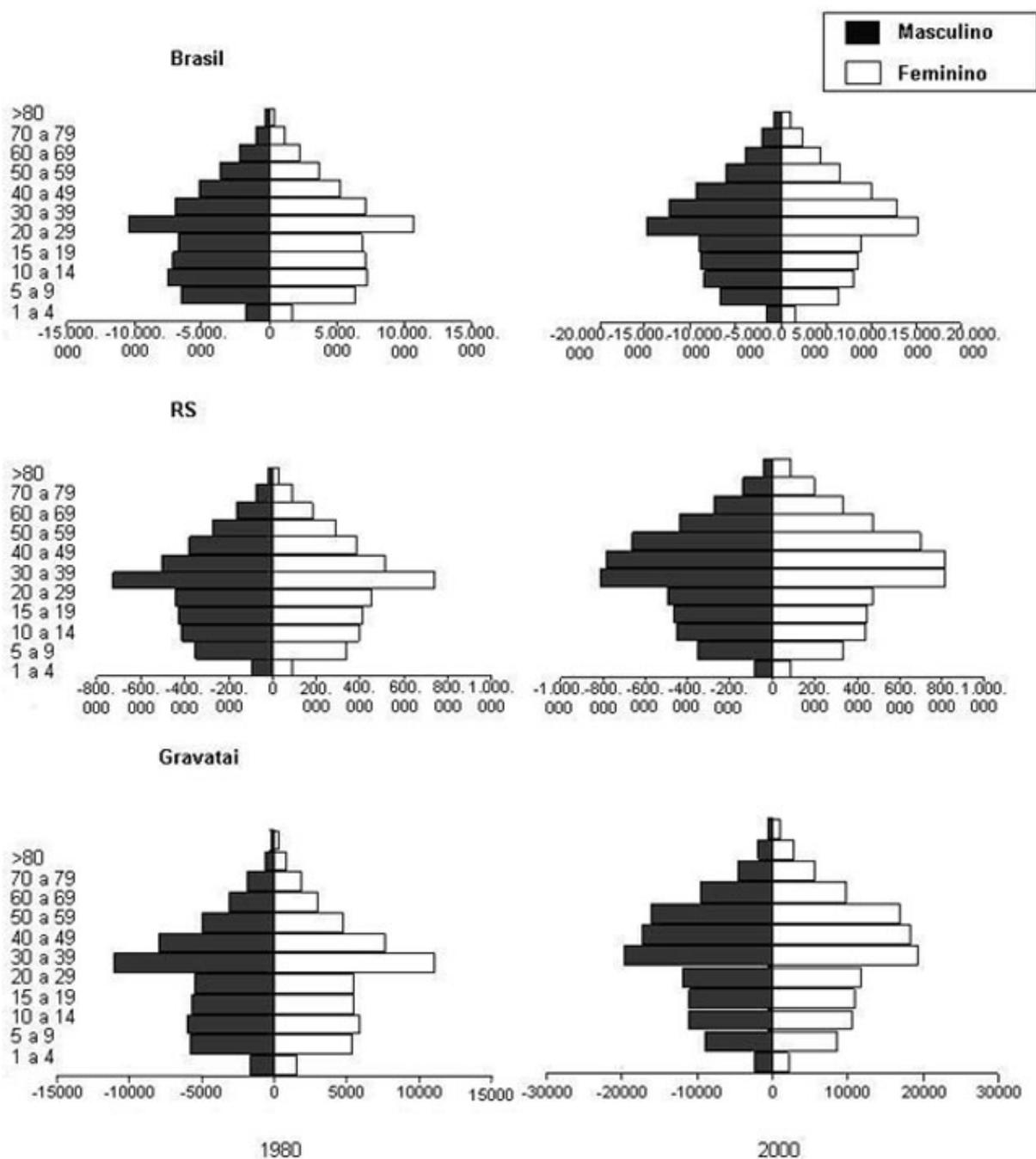
..... Diello e

.....

Av. Benjamin Constant, 1521 - Porto Alegre - RS.

Fone: 3243 5054 - Custas R\$

APÊNDICE C



Comparação da evolução da pirâmide etária do Brasil, Rio Grande do Sul e Gravataí nos anos de 1980 e 2000. Fonte: IBGE³

APÊNDICE D

Evolução da mortalidade proporcional (%) por faixa etária segundo o grupo de causas (CID10)

Grupo de Causas		Faixas Etárias								Total
		≤ 1	1 a 4	5 a 9	10 a 14	15 a 19	20 a 49	50 a 64	≥65	
Doenças infecto-parasitárias	Brasil	8,4	17,7	8,8	6,6	2,7	8,9	4,9	3,3	5,3
	RS	4,4	11,9	6,8	3,4	2,7	12,4	3,6	2,0	4,3
	Gravataí	2,2	9,1	25,0	0,0	0,0	13,5	2,7	2,1	4,8
Neoplasias	Brasil	0,3	7,8	14,9	11,7	4,8	11,6	23,2	16,6	15,3
	RS	0,5	10,6	16,9	16,9	5,2	16,5	29,9	19,8	20,4
	Gravataí	0,0	0,0	25,0	12,5	5,6	12,7	27,6	17,8	18,0
Doenças do Aparelho Circulatório	Brasil	0,9	2,9	4,1	5,6	3,5	16,1	36,1	43,5	31,5
	RS	0,3	2,8	2,1	3,7	2,6	15,0	32,2	43,1	33,4
	Gravataí	0,0	0,0	0,0	0,0	11,1	15,6	29,6	40,5	29,8
Doenças do Aparelho Respiratório	Brasil	7,0	20,1	8,5	6,8	3,5	5,2	8,4	15,8	11,2
	RS	6,5	17,8	7,2	5,4	3,7	5,2	9,6	16,2	12,4
	Gravataí	10,9	36,4	0,0	0,0	5,6	8,0	11,6	18,3	14,0
Afecções período perinatal	Brasil	61,5	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,9
	RS	57,5	1,6	0,0	0,3	0,2	0,1	0,0	0,0	2,1
	Gravataí	47,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7
Causas externas	Brasil	2,1	22,8	41,6	51,2	76,4	41,7	8,1	2,8	14,9
	RS	4,8	22,5	42,4	45,4	75,8	35,1	7,3	2,5	10,6
	Gravataí	4,3	18,2	37,5	75,0	66,7	33,8	7,0	2,5	12,3
Demais causas	Brasil	19,8	27,8	22,0	18,1	9,1	16,5	19,3	17,9	17,9
	RS	26,0	32,8	24,6	24,7	9,6	15,8	17,5	16,3	16,9
	Gravataí	34,8	36,4	12,5	12,5	11,1	16,4	21,6	18,8	19,4

Fonte: DATASUS.¹³⁶

APÊNDICE E

Demais indicadores de saúde do Município de Gravataí-RS. Ano: 2002.

Pessoas Residentes – Total	232.629	Pessoas
Pessoas Residentes – Área Urbana	212.144	Pessoas
Esgoto - Domicílios particulares permanentes com banheiro ligado à rede geral	22.144	Domicílios
Água - Domicílios particulares permanentes com abastecimento ligado à rede geral	49.421	Domicílios
Lixo - Domicílios particulares permanentes com lixo coletado	65.247	Domicílios
Óbitos e Serviços de Saúde 2002-2003		
Óbitos hospitalares – Homens	195	Óbitos
Óbitos hospitalares – Mulheres	152	Óbitos
Óbitos hospitalares - Doenças infecciosas e parasitárias	40	Óbitos
Óbitos hospitalares - Causas externas	3	Óbitos
Estabelecimentos de saúde – Total	37	Estabelecimentos
Estabelecimentos de saúde - Prestadores de serviços ao SUS	28	Estabelecimentos
Leitos hospitalares	148	Leitos
Leitos hospitalares disponíveis ao SUS	148	Leitos
Registro Civil 2002		
Nascimentos registrados no ano	3.934	Nascimentos
Base Territorial		
Área da unidade territorial	463,76	Km ²

Fonte: IBGE³

APÊNDICE F

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Em 1998, o Instituto de Geriatria e Gerontologia da PUCRS (IGG-PUCRS) foi nomeado o primeiro centro colaborador da Organização Mundial da Saúde (OMS) e Organização Panamericana da Saúde para a Prevenção das Patologias e Doenças Crônico-Degenerativas Associadas ao Envelhecimento da América Latina (PAHO) na América Latina.

A partir daí, diversos programas de pesquisa vêm sendo desenvolvidos, dentre os quais o PROGRAMA GÊNESIS coordenado pelo Dr. Emílio H. Moriguchi e pela Dra. Ivana Beatrice Manica da Cruz. Dentro deste programa, está incluído o projeto “ASSOCIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA E DO POLIMORFISMO G894T DA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE ENDOTELIAL (NOS3) NA PREVALÊNCIA DE FATORES DE RISCO E MORBIDADES CARDIOVASCULARES EM IDOSOS”, de responsabilidade do educador físico Luciano Castro.

Esta pesquisa será de grande importância para a população em geral já que é de extrema importância que saibamos identificar e indicar não somente o tipo de atividade física para diferentes populações, mas também saber qual a intensidade da atividade que poderá trazer os melhores benefícios para o indivíduo que a pratica.

Uma grande quantidade de evidências mostram que a atividade física regular e moderada tem efeitos benéficos a saúde, principalmente em relação às doenças cardiovasculares. Estudos mais recentes têm sugerido que a relação entre atividade física moderada como fator protetor e a atividade física intensa como fator de risco pode ainda ser modulada por fatores intrínsecos como polimorfismos de genes. Este é o caso do gene da enzima óxido nítrico sintase endotelial, que tem um papel fisiológico importante na modulação do relaxamento dos vasos sanguíneos e parece estar associada a doenças cardiovasculares.

Com base nestas considerações o trabalho proposto tem como perspectiva investigar a interação entre atividade física cotidiana, e o polimorfismo G894T da NOS3 em idosos que vivem no município de Gravataí, com indicadores de risco e morbidades cardiovasculares (antropológicos, fisiológicos, bioquímicos e clínicos).

Todas as análises foram feitas no Laboratório de Bioquímica e Genética Molecular do IGG-PUCRS, que conta com uma equipe de médicos e pesquisadores especializados.

Todos os resultados obtidos na avaliação clínica e genética serão comunicados, ficando sob a tutela do IGG-PUCRS, podendo, a qualquer momento, serem consultados e/ou eliminados da pesquisa caso haja desistência da sua participação como voluntária.

Caso for observada qualquer alteração na sua saúde, nós a encaminharemos para atendimento médico apropriado, através dos órgãos de saúde ligados à prefeitura de seu município.

Os desconfortos e riscos que o senhor(a) passará serão mínimos estando basicamente relacionados com a coleta de sangue, que implica em uma sensação dolorosa temporária na região da coleta, havendo possibilidade de formação de um pequeno hematoma na região.

Os benefícios imediatos serão muitos, já que os resultados desta avaliação servem como uma revisão médica gratuita e preventiva da sua saúde.

Os pesquisadores envolvidos no projeto garantem ao senhor(a) o direito a qualquer pergunta e/ou esclarecimento mais específicos dos procedimentos realizados, e/ou interpretação dos resultados obtidos nos exames. Novamente reafirmamos que o senhor(a) tem a liberdade de abandonar a pesquisa, sem que isto leve a qualquer prejuízo posterior.

Os pesquisadores garantem sigilo e privacidade em relação aos resultados dos exames, já que um número de protocolo passará a identificá-lo na pesquisa e não o seu nome.

Uma vez que iremos estudar diversos aspectos clínicos e genéticos, o sangue coletado ficará sob a tutela e total responsabilidade dos pesquisadores do Laboratório de Bioquímica e Genética Molecular do IGG-PUCRS. Este material poderá ser destruído a qualquer momento que o senhor(a) desejar, sem que isto lhe acarrete qualquer prejuízo.

Uma vez que o sangue pode servir para análises adicionais, estas só serão feitas se o senhor(a) assinar novo termo de consentimento que explique os outros exames que serão feitos com o sangue armazenado.

Termo de Consentimento

Eu, _____, portador da CI _____, residente em Gravataí, Rio Grande do Sul, fui informado dos objetivos específicos acima e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que novas informações, obtidas durante o estudo, me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa.

O *Instituto de Geriatria e Gerontologia da PUCRS* certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Caso tenha novas perguntas sobre este estudo, posso chamar um integrante da equipe de pesquisa do Laboratório de Bioquímica e Genética Molecular do IGG pelo telefone (051) 3203000 ramal 2660.

Declaro ainda que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

Assinatura: _____

Data: _____

Pesquisador Responsável:

APÊNDICE G**OFÍCIO DE APROVAÇÃO CEP-PUCRS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP - PUCRS



Ofício 381/06-CEP

Porto Alegre, 10 de abril de 2006.

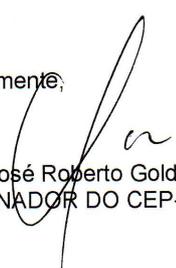
Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou seu protocolo de pesquisa registro 06/03071, intitulado: "Análise da interação entre atividade física regular polimorfismos genéticos associados ao estresse oxidativo e riscos cardiovasculares".

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parciais e final devem ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente,


Prof. Dr. José Roberto Goldim
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)
Luciano Castro
N/Universidade

ANEXO A**QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – IPAQ****(forma curta)**

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

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez:

1a. Em quantos dias de uma semana normal, você realiza atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbia, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que faça você suar **BASTANTE** ou aumente **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração. ___ dias por **SEMANA** () Nenhum

1b. Nos dias em que você faz essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gasta fazendo essas atividades **por dia**?
Horas: _____ Minutos: _____

2a. Em quantos dias de uma semana normal, você realiza atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbia leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que faça você suar leve ou aumente **moderadamente** sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**) ___ dias por **SEMANA** () Nenhum

Observações: _____

2b. Nos dias em que você faz essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gasta fazendo essas atividades **por dia**? Horas: _____ Minutos: _____

3a. Em quantos dias de uma semana normal você caminha por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício? _____ dias por **SEMANA** () Nenhum

3b. Nos dias em que você caminha por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gasta caminhando **por dia**? Horas: _____ Minutos: _____

4a. Estas últimas perguntas são em relação ao tempo que você passa sentado ao todo no trabalho, em casa, na escola ou faculdade e durante o tempo livre. Isto inclui o tempo que você passa sentado no escritório ou estudando, fazendo lição de casa, visitando amigos, lendo e sentado ou deitado assistindo televisão.

Em média, quanto tempo **por dia** você fica sentado em um dia da semana?

Horas: _____ Minutos: _____

4b. Em média, quanto tempo **por dia** você fica sentado no final de semana?

Horas: _____ Minutos: _____