
Ciências Biológicas Integral

Pamella Araujo Malagrino

**Polimorfismos do gene da eNOS: relação
com Hipertensão Arterial em diferentes
níveis de Atividade Física em adultos**

PAMELLA ARAUJO MALAGRINO

**POLIMORFISMOS DO GENE DA ENOS: RELAÇÃO COM HIPERTENSÃO
ARTERIAL EM DIFERENTES NÍVEIS DE ATIVIDADE FÍSICA EM ADULTOS**

Orientador: Prof^a. Dr^a. ANGELINA ZANESCO

Co-orientador: Carlos Henrique Grossi Sponton

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Biociências da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” -
Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

**Rio Claro
2009**

796 Malagrino, Pamella Araujo
M236p Polimorfismos do gene da eNOS: relação com hipertensão arterial em diferentes níveis de atividade física em adultos / Pamella Araujo
Malagrino. - Rio Claro : [s.n.], 2009
67 f. : il., figs., tabs., quadros

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Angelina Zanesco
Co-Orientador: Carlos Henrique Grossi Sponton

1. Educação física. 2. Íntron 4. 3. Posição -786. 4. Pressão arterial. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

*Dedico este trabalho a todas as pessoas
que me ajudaram na realização deste sonho,
ser BIÓLOGA.*

*“Não existe triunfo sem perda,
não há vitória sem sofrimento,
não há liberdade sem sacrifício.”
(J.R.R. Tolkien)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus que me deu perseverança para chegar até aqui e colocou os anjos no meu caminho, que agradeço abaixo.

Agradecimentos eternos à minha mãe, meu pai e minha irmã, que sempre me apoiaram, bancaram meus estudos e ainda me agüentaram estressadíssima com o volume de atividades acumuladas durante a graduação. Amo e agradeço vocês por me tornarem essa pessoa que sou hoje, pois tudo que aprendi teve a participação de vocês. Polly, obrigada por ser minha maior incentivadora nos momentos críticos, porque se eu estava lotada de coisas para fazer e achava que não ia dar conta, eu sempre pensava, “minha irmã está muito pior e consegue”, porque eu não consigo? Família, obrigada pela oportunidade de realização deste sonho.

À minha madrinha Tai tenho que agradecer o exemplo de pessoa estudiosa, alegre e espontânea que me fez seguir pelo mesmo caminho.

Faço aqui um agradecimento especial ao meu namorado **Rodrigo Degli Esposti**, o qual dividiu comigo (na mesma proporção) este enorme trabalho, participando tanto da parte teórica quanto da parte prática. Trabalhamos conjuntamente na elaboração deste trabalho que considero nosso. Não me esquecendo também do amor, compreensão, carinho, paciência e sacrifícios de final de semana. Você é muito especial para todos a sua volta e principalmente para mim. Quero agradecer também a família do Rodrigo que me aceitou de braços abertos na casa deles, me ajudando sempre que eu precisava e fazendo os meus momentos de lazer muito alegres em Rio Claro.

Agradeço meu co-orientador: Carlos Sponton pela paciência, ajuda na elaboração deste trabalho e amizade me dedicada nestes 2 anos no laboratório.

Um muito, muito obrigada, aos meus amigos de laboratório: Rômulo (pelas horas fazendo cálculos estatísticos), Tiago (por ensinar-me quando eu era estagiária), Andrea (corrigir meus pôsteres), Emeline, Fernanda, Carol e lane (pela ajuda nas coletas sanguíneas).

Agradeço também á equipe que me ajudou muito na análise genética na Unicamp, abrindo as portas do Hemocentro para uma iniciante na área: Dr. Fernando Costa, Carla, Dulcinéia, Denise, Fernanda, Marcos André e Maria do Socorro.

Obrigada ao prof. Dr. Maurício Bacci Junior por ter emprestado o CEIS para que eu pudesse fazer parte das minhas análises genéticas e por me dar de presente uma excelente orientadora laboratorial e amiga que é a Cynara. Cy, se hoje sou exigente e metódica com as coisas no laboratório e faço uso deste direito foi por ter aprendido primeiramente com você.

Agradeço a toda a minha turma, Ciências Biológicas Integral 2006, pelo companheirismo, amizade, ensinamento, compreensão e diversão.

Aos professores, aos quais em enchi de perguntas nas aulas e fora delas e pacientemente me explicaram.

Aos amigos Deise, Hélio, Helinho e Matheus, pelo incentivo, amizade, compreensão e horas de estudo comigo no cursinho.

Não posso me esquecer de agradecer minha família rioclarense, a minha república, onde me diverti muito e aprendi a conviver com as diferenças. Meninas, vocês são simplesmente D+. Clá, Carol, Fer, Grá, Jú, Anne, obrigada por me ajudarem em tudo, serem um pouco: amiga, mãe, pai e irmãs. Agradeço também a Dona Maria que me acolheu no primeiro ano em sua casa e me tratou como filha.

Um super agradecimento a orientadora e amiga Angelina Zanesco por ter me fornecido a chance de trabalhar na área que eu amo que é a área da Saúde e por me ajudar a crescer profissionalmente, me incentivando sempre e me forçando a dar o meu melhor.

Agradeço também ao apoio financeiro da FAPESP, porque ninguém faz pesquisa somente com amor.

RESUMO

A gênese da hipertensão arterial têm sido associada à presença de polimorfismos em alguns genes, em específico no gene da eNOS. O polimorfismo no Íntron 4 é caracterizado por um Número Variável de Repetições em Tandem, no qual o alelo 4a foi relacionado a baixos níveis de nitrito/nitrato. Os indivíduos 4a/a exibiram 20% menos óxido nítrico (NO) que os indivíduos com genótipos 4b/b, assim como diminuições na expressão protéica da eNOS. Acredita-se que a alteração polimórfica de único nucleotídeo (SNP), na posição -786 do gene da eNOS esteja relacionada à modulação do gene através da ação de uma proteína repressora chamada de RPA1, capaz de diminuir a quantidade de mRNA, e nitrito/nitrato plasmático; demonstrando sua provável contribuição para o aumento dos valores de pressão arterial. Apenas dois trabalhos mostram uma associação entre os polimorfismos do Intron 4 e -786, demonstrando que o 4a/4a apresenta uma possível ligação de desequilíbrio com a posição -786, sugerindo uma associação positiva entre polimorfismos e prevalência de espasmos coronários e redução na produção endotelial de NO. No entanto, nenhum trabalho avaliou a associação entre o nível de atividade física e a presença de polimorfismo no Íntron 4 e -786 juntos. Assim, os objetivos deste trabalho foram: verificar se existe relação entre a prevalência de hipertensão arterial e a presença do polimorfismo para o gene da eNOS nas duas posições -786 e Íntron 4, separadamente e juntamente, em voluntários acima de 40 anos e também avaliar se existe relação entre o nível de atividade física e os valores de pressão arterial em indivíduos com e sem estes polimorfismos.

Para a análise genética foram feitas análises de reação em cadeia da polimerase (PCR) e para a classificação dos níveis de atividade física foi utilizado o questionário Minnesota Leisure-Time Physical Activity modificado. Nosso estudo mostrou que não existe associação entre a presença de polimorfismos da eNOS e a prevalência de hipertensão arterial na população estudada, tanto para a posição -786, quanto para o Íntron 4, bem como quando associamos os dois polimorfismos. Por outro lado, o maior nível de atividade física mostrou ser benéfica para o sistema cardiovascular e melhora dos valores de circunferência abdominal, um importante fator de risco para a síndrome metabólica, independente do genótipo.

Palavras chave: Hipertensão arterial, Polimorfismo eNOS, Atividade física.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. GENÉTICA DA HIPERTENSÃO ARTERIAL.....	10
2.1. Hipertensão arterial.....	10
2.2. Pressão Arterial e Óxido Nítrico	11
2.3. Íntron 4	12
2.4. Posição -786	13
2.5. Atividade Física	14
3. OBJETIVOS	16
4. MÉTODOS	17
4.1. Participantes	17
4.2. Questionário	17
4.3. Grupo Experimental	18
4.4. Avaliação Antropométrica	19
4.5. Medida da Pressão Arterial	20
4.6. Coleta Sanguínea	20
4.7. Análise Genotípica do gene da eNOS	20
5. RESULTADOS	27
5.1. Análise dos dados somente pelo genótipo da posição -786 do gene da eNOS	27
5.2. Análise dos dados pelo genótipo da posição -786 associado à hipertensão arterial.....	30
5.3. Análise dos dados somente pelo genótipo do íntron 4 do gene da eNOS.....	35
5.4. Análise dos dados pelo genótipo do intron 4 do gene da eNOS associado à hipertensão arterial.....	38
5.5. Análise dos dados pela interação dos genótipos da posição -786 com os do Íntron 4.....	43
5.6. Análise dos dados pela interação dos genótipos da posição -786 com os do Íntron 4 associados à hipertensão arterial.....	46
5.7. Sumário dos resultados.....	52
6. DISCUSSÃO	53
7. CONCLUSÕES.....	55

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
9. ANEXO	62
9.1. Aprovação do Comitê de Ética	62
9.2. Questionário	63

1. INTRODUÇÃO

Alguns estudos têm associado a presença de polimorfismos no gene da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) com a gênese da hipertensão arterial devido esta ser a principal enzima conversora do NO, um importante vasodilatador. O íntron 4 da eNOS é caracterizado por um Número Variável de Repetições em Tandem (UWABO et al., 1998; YOKOYAMA et al., 2000; PULKKINEN et al., 2000) e possui um polimorfismo que apresenta 4 repetições de 27pb (4a) ao invés de 5 repetições(4b). O alelo 4a foi relacionado a baixos níveis de nitrito/nitrato, derivados do NO, no qual os indivíduos homozigotos para esse alelo exibiram 20% menos de óxido nítrico (NO) quando comparados com os indivíduos com genótipos 4b/b, assim como diminuições na expressão protéica da eNOS (TSUKADA et al., 1998, WANG et al., 2000). Outro polimorfismo do gene da eNOS, um polimorfismo de único nucleotídeo (SNP) localiza-se na região promotora -786 e possui uma substituição de timina (T) por citosina (C). Acredita-se que a alteração polimórfica observada nesta região, gera quantidades diminuídas de RNA mensageiro (mRNA), assim como menor nível de nitrito/nitrato plasmático (MIYAMOTO et al., 2000). Apenas dois trabalhos mostraram uma associação entre os polimorfismos no Íntron 4 e na região promotora -786, demonstrando que o homozigoto polimórfico (4a/a) apresenta uma possível ligação de desequilíbrio com a posição -786, sugerindo uma associação positiva entre esses polimorfismos e a prevalência de espasmos coronários e redução na produção endotelial de NO (YOSHIMURA et al., 2000; NAKAYAMA et al., 1999). No entanto, nenhum trabalho avaliou a associação entre o nível de atividade física e a presença de polimorfismo na região Íntron 4 e -786 juntos. Assim, os objetivos deste trabalho foram verificar se existe relação entre a prevalência de hipertensão arterial e a presença do polimorfismo para o gene da eNOS nas duas posições -786 e Íntron 4, separados e em conjunto, em voluntários acima de 40 anos; e também avaliar se existe relação entre o nível de atividade física e os valores de pressão arterial em indivíduos com e sem estes polimorfismos.

2. GENÉTICA DA HIPERTENSÃO ARTERIAL

2.1 Hipertensão Arterial

A hipertensão é uma síndrome multicausal, multifatorial e poligênica caracterizada pela presença de níveis tensionais elevados e normalmente associada a distúrbios metabólicos, hormonais com presença de hipertrofia cardíaca e elevação do tônus vascular (NEGRÃO & BARRETTO, 2006; KRIEGER & PEREIRA, 2006). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2003) existem no mundo 600 milhões de hipertensos, sendo a hipertensão o terceiro principal fator de risco associado à mortalidade mundial. Desses hipertensos cerca de 50% estão entre a faixa etária de 60 e 69 anos e $\frac{3}{4}$ destes, acima de 70 anos (DÓREA & LOTUFO, 2004). A hipertensão arterial acarreta 40% das mortes por acidente vascular cerebral e 25% por doença arterial coronariana. No Brasil, inquéritos de base populacional realizados em algumas cidades mostram prevalência de hipertensão arterial ($\geq 140/90$ mmHg) de 22,3% a 43,9% (V DIRETRIZES DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2006).

Inúmeros fatores podem contribuir de forma significativa para o aumento na incidência das doenças cardiovasculares, incluindo alteração no perfil lipídico, excesso de peso corporal e níveis diminuídos de atividade física (SIMKIN-SILVERMAN et al., 1995). Em relação à hipertensão arterial, especificamente, o excesso de consumo de sódio, o consumo elevado de bebidas alcoólicas (STRANGES et al., 2004), a obesidade, as dislipidemias (alteração no perfil lipídico), o diabetes mellitus e o sedentarismo apresentam-se como importantes fatores de risco para o seu desenvolvimento (BLOCH, 2006).

Atualmente tem sido recomendado, para se evitar as doenças cardiovasculares (DC), o controle do peso pelo índice de massa corpórea (IMC), ou seja, o seu peso dividido pela sua altura ao quadrado tem que apresentar valores menores que 25 kg/m^2 , evitando assim a classificação de sobrepeso e obesidade (ZHU et al., 2004, World Health Organization, 2000).

O controle da circunferência abdominal também é importante, mulheres < 88 cm e homens < 102 cm (National Institutes of Health,1998), pois ele verifica a quantidade de gordura acumulada na região já associada com os risco de DC (ZHU et al., 2004; LEAN et al., 1995; HARRIS et al., 2000).

2.2 Pressão arterial e óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) é uma das mais versáteis moléculas conhecidas, sendo considerado o maior regulador do sistema cardiovascular, atuando como mediador em muitas reações biológicas (IGNARRO et al., 1987; MELINO et al., 1997). Controla o tônus vascular basal, inibe a agregação plaquetária, atenua a adesão leucocitária e modula a proliferação de musculatura lisa do endotélio (ZANESCO & ANTUNES, 2005).

A ação do NO dá-se pela catalisação do nitrogênio terminal do grupamento guanidino da L-arginina formando quantidades equimolares de NO e L-citrulina (MONCADA et al., 1991), promovendo o relaxamento da musculatura lisa através do aumento dos níveis de GMP cíclico que diminuem a concentração citosólica de Ca^{2+} levando a vasodilatação, sendo esta reação catalisada pela Óxido Nítrico Sintase (NOS). Esta enzima apresenta-se em duas isoformas: a constitutiva (eNOS e nNOS) e a isoforma induzível (iNOS) (ZANESCO & ANTUNES, 2005). Ambas as isoformas encontram-se presentes nas células e são estimuladas por uma cascata bioquímica que pode ser dependente ou independente de íons cálcio (Ca^{2+}). Assim, a ativação da NOS constitutiva é dependente da elevação de íons Ca^{2+} nas células endoteliais. Tanto a eNOS quanto a nNOS requerem um doador de elétron, a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH), e co-fatores como a flavina adenina dinucleotídeo (FAD), a flavina mononucleotídeo (FMN) e a tetrahidrobiopterina (BH4) (VANHOUTTE, 2003; MOMBOULI & VANHOUTTE, 1999; MONCADA, 1997). Em humanos e, presumivelmente, na maioria das outras espécies, essas isoformas são codificadas por três diferentes genes localizados em três cromossomos distintos (MONCADA, 1997).

A codificação da sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS) é dada pelo gene (eNOS) localizado no cromossomo 7q35-36 com um comprimento genômico de

4.4kb compreendendo 25 íntrons e 26 éxons que codificam uma proteína contendo 1203 aminoácidos apresentando um peso molecular de 135-kD (MASRDEN et al., 1993). Em ratos, foi demonstrado que a ausência do gene da eNOS estava associado a altos níveis de pressão arterial (HUANG et al., 1995.; SHESELY, 1996), enquanto que a indução de cDNA deste gene apresentou uma redução dos níveis pressóricos desses animais (OHASHI et al., 1998). Em humanos, alguns estudos têm associado à presença de polimorfismos em alguns genes, com a gênese da hipertensão arterial, como é o caso do polimorfismo no Íntron 4 caracterizado por um Número Variável de Repetições em Tandem (VNTR), (WANG, et al., 1996; UWABO et al., 1998; MORITA et al., 1999; PULKKINEN et al., 2000) e o polimorfismo na posição -786 considerado um polimorfismo de único nucleotídeo (SNP) localizado na região promotora do gene da eNOS (HYNDMAN, 2002).

2.3 Íntron 4

Os íntrons podem funcionar como intensificadores/repressores para transcrição de determinados genes nas células podendo alterar a seqüência e a função do mRNA através de splicing alternativo (LIU et al., 2004; VIRTIS & RASCHKE, 2001) ou ainda fornecer *small* ou micro RNA que regulam a expressão de seu próprio gene ou de outros através da metilação do DNA ou remodelamento da cromatina (AMBROS et al., 2003; YING & LIN, 2004, 2005; KAWASAKI & TAIRA, 2004).

Para o Íntron 4 do gene da eNOS, dois alelos têm sido identificados: o maior alelo 4b consiste em cinco repetições em tandem da seqüência GAAGTCTAGACCTGCTGCA/GG GGGTGAG, e o menor alelo 4a consiste em apenas quatro repetições em tandem ambos com 27 bp (WANG et al., 1996). O alelo 4a foi relacionado a baixos níveis de nitrito/nitrato plasmáticos, no qual os indivíduos homozigotos para esse alelo exibiram redução de 20% na concentração desses metabólitos do NO quando comparados com indivíduos com genótipos 4b/b, assim como diminuição na expressão protéica da eNOS (TSUKADA et al., 1998, WANG et al., 2000). No entanto, nem todos os trabalhos confirmam estes achados (YOON et al., 2000; JEEROBURKHAN, 2001).

Zhang e colaboradores (2005) demonstraram que a repetição de 27 pb do Íntron 4 produzia microRNAs que inibiam a expressão da eNOS. Mais recentemente, esses autores demonstraram que estes microRNAs presentes exclusivamente no

núcleo alteram a acetilação das histonas no Íntron 4 e da região reguladora, silenciando o próprio gene da eNOS (Zhang et al., 2008). A hipermetilação na região repressora (27pb em tandem) resulta no recrutamento de fatores negativos de transcrição para a região promotora. Desta forma, o Íntron 4 pode ter relação com a posição -786 da região reguladora da eNOS. Devido ao silenciamento do próprio gene, acredita-se que a repetição de 27pb do Íntron 4 possa atuar por feedback negativo (ZHANG et al., 2005).

No entanto, alguns estudos não encontraram associação positiva entre o polimorfismo do Íntron 4 da eNOS e a prevalência de hipertensão arterial (ODAWARA, et al., 1998; MIYAMOTO et al., 1998; BENJAFIELD & MORRIS 2000).

2.4 Posição -786

Outro polimorfismo importante e muito estudado é o polimorfismo de único nucleotídeo (SNP) localizado na região promotora -786 do gene da eNOS com a substituição de timina (T) por citosina (C). Ele tem demonstrado correlação positiva com as doenças cardiovasculares (WANG & WANG, 2000; MARRONI, 2005; DENGEL et al., 2007; SPOTO et al., 2007), bem como com espasmos coronarianos (NAKAYAMA et al., 1999), doenças renais (ZANCHI et al., 2000) e hipertensão arterial (HYNDMAN, 2002). Acredita-se que a alteração polimórfica observada nesta região esteja relacionada com a modulação do gene da eNOS através da ação de uma proteína repressora chamada de RPA1 (KIMURA et al, 2003), gerando quantidades diminuídas de RNAm, assim como menor nível de nitrito/nitrato plasmático (MIYAMOTO et al., 2000).

Apenas dois trabalhos mostram uma associação entre os polimorfismos no Íntron 4 e na região promotora -786, demonstrando que o homozigoto polimórfico (4a/a) apresenta uma possível ligação de desequilíbrio com a posição -786, sugerindo uma associação positiva entre esses polimorfismos e prevalência de espasmos coronários e redução na produção endotelial de NO (YOSHIMURA et al., 2000; NAKAYAMA et al., 1999). No entanto, nenhum trabalho avaliou a associação entre o nível de atividade física e a presença de polimorfismo na região Íntron 4 e da posição -786 juntos.

2.5 Atividade Física

Além dos fatores genéticos, fatores ambientais, como um estilo de vida fisicamente inativo, fumo, alta ingestão de bebidas alcoólicas e a falta de controle de peso contribuem para o desenvolvimento do quadro hipertensivo (ACSM, 2001). A atividade física regular é recomendada como terapêutica não farmacológica na prevenção e/ou tratamento das doenças cardiovasculares e na melhora do quadro hipertensivo. Indivíduos inativos apresentam um risco de cerca de 30% maior do que os indivíduos ativos de desenvolver hipertensão arterial (PAFFENBARGER et al., 1991; FAGARD, 2005).

Os efeitos benéficos do exercício físico, um tipo de atividade física, estão relacionados à redução das concentrações séricas de colesterol total, LDL colesterol e triglicerídeos, e elevação dos níveis da concentração de HDL e perda de peso (KINGWELL, 2000; LATERZA et al., 2007). Além desses benefícios, o aumento de fluxo sanguíneo em leitos vasculares, gerado pela atividade física, provoca elevação da força de cisalhamento (shear stress) sobre os vasos, um dos mais importantes estímulos para a célula endotelial produzir importantes vasodilatadores como o NO e EDHR (fator hiperpolarizante derivado do endotélio), levando a hipotensão arterial (ZANESCO & ANTUNES, 2007; ZANESCO & ZAROS, 2009). Para maiores detalhes veja figura 1.

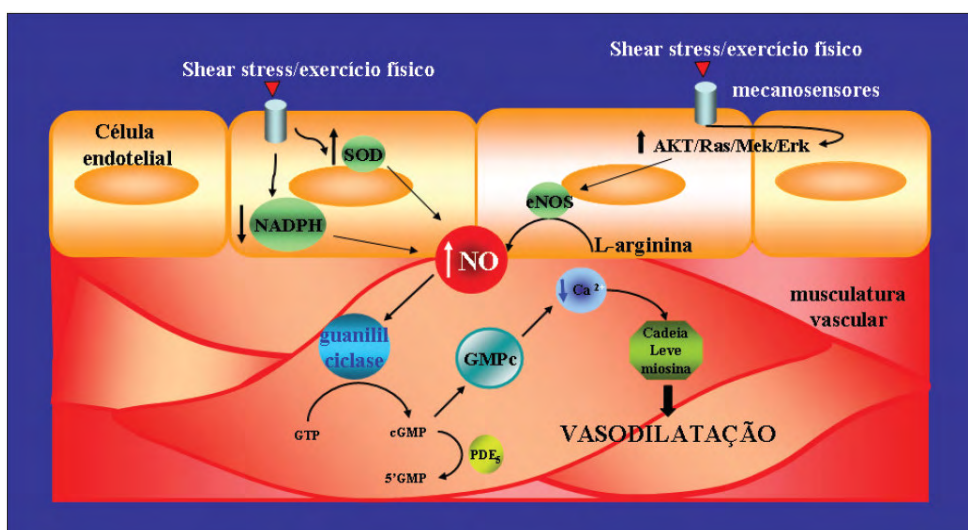


Figura 1. Mecanismo de ação do óxido nítrico e relaxamento do músculo liso vascular em resposta ao exercício físico (ZANESCO & ZAROS, 2009).

Dados experimentais mostram que a redução da pressão arterial após exercício dinâmico crônico é maior em indivíduos hipertensos, principalmente

quando os indivíduos estão classificados nos estágios 1 e 2 de hipertensão arterial, do que em normotensos, tanto em humanos quanto em animais de laboratório. A redução dos valores de pressão arterial sistólica e diastólica decorrente de atividade física varia de 18–20 mmHg (Δ) e de 7–9 mmHg (Δ), respectivamente, em humanos com hipertensão leve ou moderada. Em indivíduos normotensos, a redução é de 8–10 mmHg (Δ) para a pressão sistólica e de 3–5 mmHg (Δ) para a pressão diastólica (DUNCAN et al., 1985; KENNEY & SEALS, 1993). Deste modo, com exercícios físicos, alguns pacientes hipertensos conseguem redução, e às vezes até suspensão de medicamentos anti-hipertensivos, reduzindo dessa forma, os gastos dos órgãos de saúde pública e os efeitos colaterais decorrentes do tratamento medicamentoso (CADE et al., 1984).

Não há estudos relacionando o polimorfismo da posição -786 do gene da eNOS com o nível de atividade física e hipertensão arterial, diferentemente do polimorfismo do Íntron 4, cujo um único estudo verificou associação positiva dessas variáveis na população japonesa (KIMURA, 2003). No entanto, não existem trabalhos avaliando a correlação desses polimorfismos, o nível de atividade física e a presença de hipertensão arterial na população brasileira.

3. OBJETIVOS

Assim, este trabalho tem por objetivos:

1. Verificar se existe relação entre a prevalência de hipertensão arterial e a presença do polimorfismo para o gene da eNOS nas duas posições -786 e Íntron 4, separados ou em conjunto, em voluntários acima de 40 anos;
2. Avaliar se existe relação entre o nível de atividade física e os valores de pressão arterial em indivíduos com e sem estes polimorfismos.

4. MÉTODOS

4.1 Participantes

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em seres humanos do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP (Protocolo n° 6603 - Anexo 1).

Os participantes desse estudo foram convidados e selecionados segundo os critérios de inclusão dentro do campus de Rio Claro da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

Critérios de inclusão - Para serem incluídos no estudo, os participantes deveriam ser adultos acima de 40 anos, não ser fumante; ter função renal normal (creatina sérica < 1,4 mg/dL); ter um IMC < 34,9 kg/m², evitando-se assim a interferência da obesidade II e III. Os participantes selecionados foram convidados a comparecer ao Laboratório de Atividade Física e Saúde, os quais assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido informando sobre os procedimentos e riscos da pesquisa. Dessa maneira obteve-se um número de 74 participantes de ambos os sexos.

4.2 Questionário

Foi aplicado o Minnesota Leisure-Time Physical Activity Questionnaire (TAYLOR, et al., 1978) com a atualização dos seus valores de índice metabólicos (METs) feitas por Bárbara Ainsworth e colaboradores (2000), para a classificação dos níveis de atividade física. O questionário segue em anexo 2, e a seguinte fórmula foi aplicada para cada atividade:

(unidade de intensidade – METs) X (duração) X (frequência por mês) X (número de meses por ano) ÷ 52 semanas/ano.

O valor de cada atividade foi ainda dividido por 7, como forma de obter-se a atividade diária do participante.

Em seguida foi feita a soma destas atividades e os grupos de normotensos e hipertensos foram divididos em tercil: os participantes com 1/3 de maior valor foram classificados como alto nível de atividade física (mais ativo) e os outros 2/3 foram classificados como baixo nível de atividade física (menos ativo).

4.3 Grupos Experimentais

Inicialmente, os grupos experimentais foram analisados somente pelos genótipos para cada posição do gene da eNOS (-786 e íntron 4) como segue no quadro 1 abaixo.

Quadro 1. Divisão dos genótipos para a posição -786 e Íntron 4 do gene da eNOS.

Região do gene eNOS	Grupo não-polimórfico	Grupo polimórfico
-786	TT	TC+CC
Íntron 4	4b/b	4a/b + 4a/a

Os genótipos para a posição -786 e Íntron 4 do gene da eNOS polimórficos heterozigotos e homozigotos (TC+CC; 4a/b+4a/a) foram agrupados para uma melhor análise estatística.

Os genótipos presentes no quadro 1 foram também agrupados para uma posterior análise de sua interação, como segue no quadro 2.

Quadro 2. Divisão dos genótipos para a posição -786 e Íntron 4 do gene da eNOS.

Sem-polimorfismo	Com apenas 1 polimorfismo	Com ambos polimorfismos
TT – 4b/b	TT – (4a/b + 4a/a) (TC+CC) - 4b/b	(TC+CC) – (4a/b + 4a/a)

Posteriormente, os grupos genotípicos para a posição -786, Íntron 4 e a interação de ambos (figura 2) foram sub-divididos em:

- **Grupo Normotenso (NT)**
- **Grupo Hipertenso (HT)**

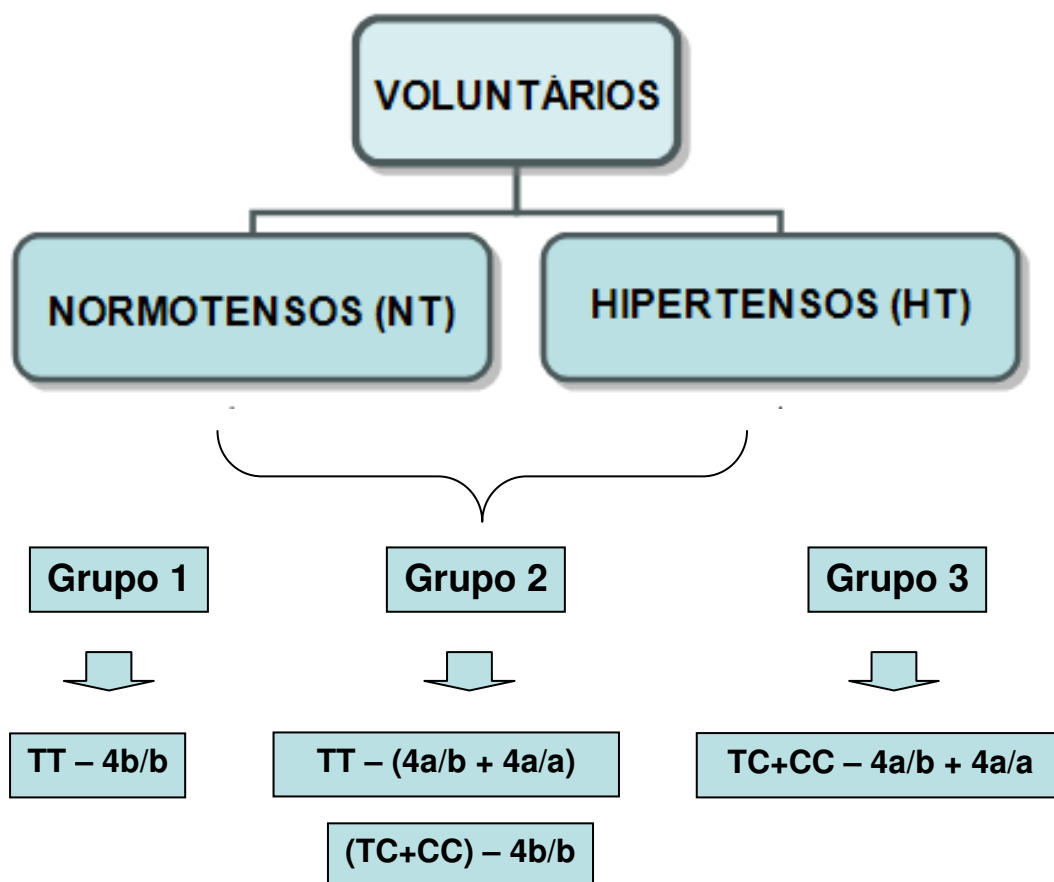


Figura 2. Esquema do estudo: Organograma da divisão dos genótipos agrupados da posição -786 e Intron 4 dentro da patologia hipertensão arterial.

4.4 Avaliação Antropométrica

O cálculo do Índice de Massa Corpórea (IMC) foi realizado com base na avaliação antropométrica (peso e altura), levando em consideração a razão entre o peso corporal e o quadrado da estatura (kg/m^2). Para a pesagem foi utilizada uma balança digital marca Plenna® estando os voluntários vestidos com o mínimo de roupa possível e descalços para a pesagem. A estatura foi mensurada através de uma fita métrica que foi fixada na parede. A circunferência abdominal (cm) foi medida com o auxílio de uma fita métrica na porção mediana entre a crista íliaca e a última costela.

4.5 Medida de pressão arterial

Nos dias determinados para aferição da pressão arterial, os voluntários foram instruídos para que não realizassem exercício físico. Pela manhã, a pressão arterial dos voluntários foi avaliada após 15 minutos de repouso na posição sentada utilizando um esfigmomanômetro aneróide (Tycos, Raleigh, NC, USA). Estas medições foram feitas pelo mesmo experiente avaliador durante três dias não consecutivos, como determina a Sociedade Brasileira de Hipertensão (2006). Os voluntários foram classificados em normotensos e hipertensos através da observação das suas pressões arteriais (pressão arterial sistólica (PAS) \geq 140 mmHg e pressão arterial diastólica (PAD) \geq 90 mmHg) sendo considerados hipertensos quando as três medidas apresentavam-se acima destes valores ou quando era determinado pelo médico.

4.6 Coleta Sanguínea

Após jejum noturno de aproximadamente 12 horas, foi coletado da veia antecubital uma amostra sanguínea (4 ml) através da técnica asséptica com material de punção venosa, descartável e apropriado para a população estudada. Uma enfermeira especializada foi contratada para a coleta.

4.7 Análise genotípica da NO sintase

Extração do DNA genômico

O DNA dos participantes foi obtido de leucócitos, a partir do protocolo Clorofórmio-Fenol do Hemocentro de Campinas. O sangue foi centrifugado a 2650 rpm por 10 minutos, o plasma descartado e os eritrócitos lisados com uma mistura de soluções contendo NH_4Cl 0,144M e NH_4HCO_3 0,01M. Após centrifugação a fase aquosa foi desprezada e este último passo repetido mais duas vezes. A seguir, foi adicionada ao precipitado 1 ml da solução denominada TKM1 (Tris-HCl 10mM; pH 7,6; KCl 10mM; MgCl_2 10mM; EDTA 20mM), juntamente com 1 gota de Triton X-100. As amostras, depois de homogeneizadas, foram centrifugadas a 2650 rpm por 10 minutos, e posteriormente a fase aquosa foi descartada, obtendo-se o precipitado de leucócitos.

Para lisar os leucócitos, foram adicionados 400 μl da solução TKM2 (Tris-HCl 10 mM pH 7,6; KCl 10mM; MgCl_2 10mM; NaCl 0,4M; EDTA 20mM) e 25 μl de

SDS 10% e incubado à 55°C por 30 min. Após esse período, 180µl de NaCl 5M foram adicionados à solução anterior e mantida em temperatura ambiente por 15 minutos. A amostra foi centrifugada a 12.000 rpm por 5 minutos e a fase aquosa transferida para outro tubo, foram adicionados 400µl de fenol pH 8,0 e igual volume de uma solução clorofórmio/álcool isoamílico (proporção 24:1) para precipitação de proteínas, seguido de homogeneização, centrifugação e transferência da fase aquosa para outro tubo. Para a completa remoção de proteínas da amostra, 900µl da mistura clorofórmio/álcool isoamílico foram adicionados ao tubo, centrifugado e a fase aquosa transferida para um novo tubo. Para a precipitação do DNA, foram adicionados 10% do volume da fase aquosa de acetato de sódio 3M pH 5,2 e 900µl de etanol absoluto gelado. O tubo foi centrifugado a 12.000 rpm por 5 minutos, a fase aquosa foi desprezada e o DNA precipitado foi lavado com 1ml de etanol 70% gelado. Posteriormente o DNA foi solubilizado em 30µl de tampão Tris-EDTA (TE) estéril e armazenado em geladeira até o dia seguinte. O DNA foi quantificado em equipamento NanoDrop® ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc, WILMINGTON, DE, USA) e a análise qualitativa realizada em gel de agarose 1,0%.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica de amplificação de DNA *in vitro* proposta por Kary Mullis em 1983. A reação, catalisada por uma enzima termoestável (*Taq* DNA polimerase), utiliza *primers* que se hibridizam em fitas opostas de regiões específicas do DNA, delimitando o fragmento. A reação é levada ao termociclador e a amplificação desta região, a partir de uma pequena quantidade de DNA, ocorre em decorrência dos repetidos ciclos de temperatura: 94-96°C - desnaturação do DNA; aproximadamente 55°C - anelamento dos *primers*, e 72°C - extensão, etapa em que há a incorporação dos nucleotídeos, resultando em um acúmulo exponencial do fragmento. Os *primers* utilizados na PCR para a obtenção do fragmento que pode conter o polimorfismo para a posição -786 (figura 3) foram desenhados no Laboratório de Bioquímica e Genoma na Unicamp utilizando o programa Gene Runner. Já os *primers* para o Íntron 4 da eNOS foram sintetizados de acordo com Wang et al.(1996) com modificação (quadro 3). A repetição em tandem de 27pb no fragmento delimitado pelos primers pode ser vista na figura 4.

Quadro 3. “*Primers*” utilizados na PCR para as diferentes regiões do gene da eNOS e tamanho dos produtos de amplificação.

Região eNOS	Tamanho	Sense (5'-3')	Antisense (5'-3')
- 786	394 pb	CACCCAGGCCACCCCAACT	GCCGCAGGTCGACAGAGAGACT
Íntron 4	420 pb	AGGCCCTATGGTAGTGCCTTG	TCTCTTAGTGCTGTGGTCACAG

Quadro 4. Reagentes utilizados na técnica de amplificação (PCR) das regiões do gene da eNOS (-786/Íntron 4).

Reagentes	Volumes (µl)	
	eNOS	-786/Íntron 4
Tampão (10X)	3,0	
MgCl ₂ (50mM)	1,2	
dNTP's (10mM)	0,5	
<i>Primer Sense</i> (10 µM)	0,5	
<i>Primer Antisense</i> (10 µM)	0,5	
<i>Taq</i> DNA Polimerase (5U/µl)	0,2	
DNA (200 ng)	1,0	
dH ₂ O	23,1	
Volume Final (µl)	30,0	

Quadro 5. : Condições das reações para amplificação dos fragmentos do gene da eNOS para as posições -786 e Íntron 4.

Região	Desnaturação inicial		Desnaturação Anelamento Extensão 35 ciclos				Extensão Final			
	T(°C)	Tempo	T(°C)	Tempo	T(°C)	Tempo	T(°C)	Tempo		
eNOS - 786/Íntron 4	96	2'	96	30''	56	30''	72	1'	72	5'

CTTATCCTCC ACTGCTTTTC AGAGGAGTCT GGCCAACACA AATCCTCTTG
 TTTGTTTGTG TGTCTGTCTG CTGCTCCTAG TCTCTGCCTC TCCAGTCTC
 TCAGCTTCCG TTTCTTTCTT AAACCTTCTC TCAGTCTCTG AGGTCTCGAA
 ATCACGAGGC TTCGACCCCT GTGGACCAGA TGCCCAGCTA GTGGCCTTTC
 TCCAGCCCCT CAGATGGCAC AGAACTACAA ACCCCAGCAT GCACTCTGGC
 CTGAAGTGCC TGGAGAGTGC TGGTGTACCC CACCTGCATT CTGGGAACTG
 TAGTTTCCCT AGTCCCCCAT GCTCCCACCA GGGCATCAAG CTCTTCCCTG
 GCT(C)GGCTGAC CCTGCCTCAG CCTAGTCTC TCTGCTGACC TGCG

Figura 3. Sequência genotípica da amplificação dos *primers* (em rosa) para a posição -786 do gene da eNOS. [Sítio de restrição da enzima MspI

CTATGGTAGT GCCTTGGCTG GAGGAGGGGA AA GAAGTCTA GACCTGCTGC
 AGGGGTGAGG AAGTCTAGACC TGCTGCAGGG GTGAGGAAGT
 CTAGACCTGC TGCAGGGGTG AGGAAGTCTA GACCTGCTGC GGGGGTGAGG
 AAGTCTAGAC CTGCTGCGGG GGTGAGGACA GCTGAGCGGA GCTTCCCTGG
 GCGGTGCTGT CAGTAGCAGG AGCAGCCTCC TGGAAAAGCC CTGGCTGCTG
 CTTCTCCCCC AAGAGAGAAG GCTTCTCCCG CCAGGCCAGT CCAGTGCAGC
 CCCTACCCA CACCCACTGC TACCCAGTT CCCCTGCTTC GGCCCGCACC
 CTCCCTCACA CCCAGCCCA CAGACTCGGG GCTGGCCTTA GTTATGGAAC
 GCCTGTGACC ACAGCACTAAG AGA

Figura 4. Sequência genotípica da amplificação dos *primers* (em rosa) para o Íntron 4 (em amarelo) para o gene da eNOS.

Determinação do polimorfismo para a posição -786 do gene da eNOS:

Após a confirmação da amplificação pela PCR em gel de agarose 1,5% (figura 5) através da eletroforese, foi realizada a técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) em que os fragmentos polimórficos amplificados foram digeridos (posição do corte na figura 3) e analisados por eletroforese (figura 6).

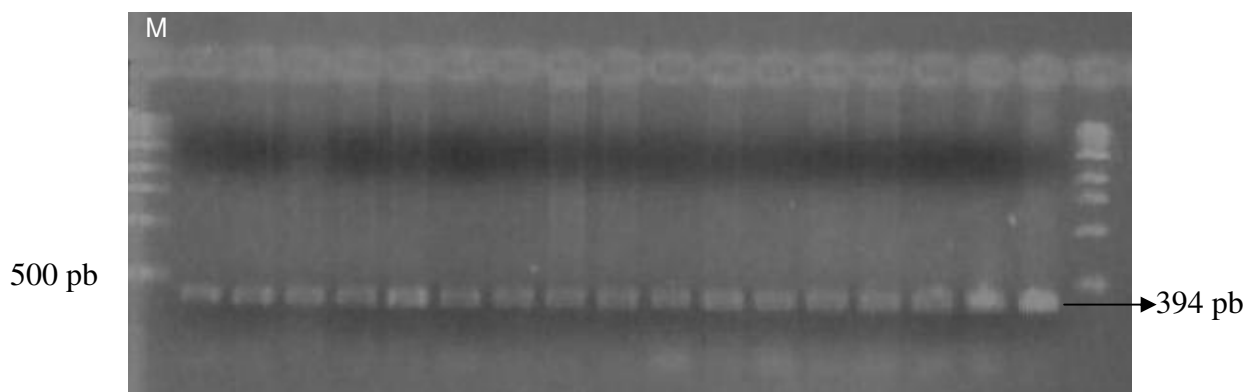


Figura 5. Gel de agarose 1,5% mostrando as bandas correspondentes à posição -786 do gene da eNOS.

Para a análise utilizando endonucleases de restrição, foram utilizados: 5,0 µl do produto amplificado, 1,5 µl do tampão da enzima 10X e 2U da enzima Fast MspI. A enzima utilizada e seu padrão de digestão esperado estão representados no quadro 6. Água deionizada e estéril foi adicionada para completar o volume de 15,0 µl e a mistura foi conduzida ao banho-maria a 37°C durante 5 minutos. O produto foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1000 a 2,5% (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) por 3 horas, corado com brometo de etídio, visualizados sob luz ultravioleta e fotografado (figura 6).

Quadro 6. Padrão de reconhecimento e digestão pela enzima MspI.

Gene	Sequência de restrição da enzima	Produto PCR	Enzima	Produto Digestão
eNOS (T-786C)	C [^] CG ₋ G	394pb	MspI	352pb+42pb

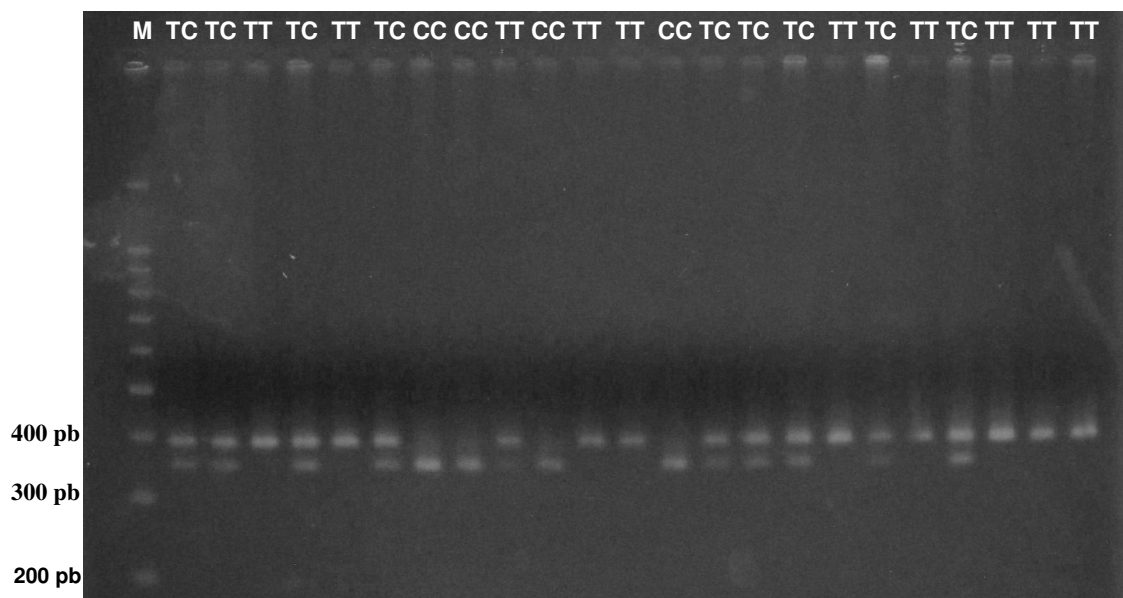


Figura 6. Foto dos fragmentos da posição -786 digeridos. M: marcador molecular (100 pb).

Após a digestão, são observadas as seguintes características para a região de interesse:

- **Homozigoto não polimórfico (T/T)** - 394pb;
- **Heterozigoto Polimórfico (T/C)** -394pb + 352pb + 42pb
- **Homozigoto Polimórfico (C/C)** - 352pb + 42pb

Determinação do polimorfismo para o Íntron 4 da eNOS:

Após a confirmação da amplificação pela PCR em gel de agarose 1,5%, foi realizada a genotipagem no sequenciador MegaBACE e a análise dos fragmentos produzidos foi feita no programa Fragment Profiler versão 1.2. O alelo 4a produziu um pico em 386 pb e o alelo 4b produziu um pico em 413 pb demonstrados na figura 7.

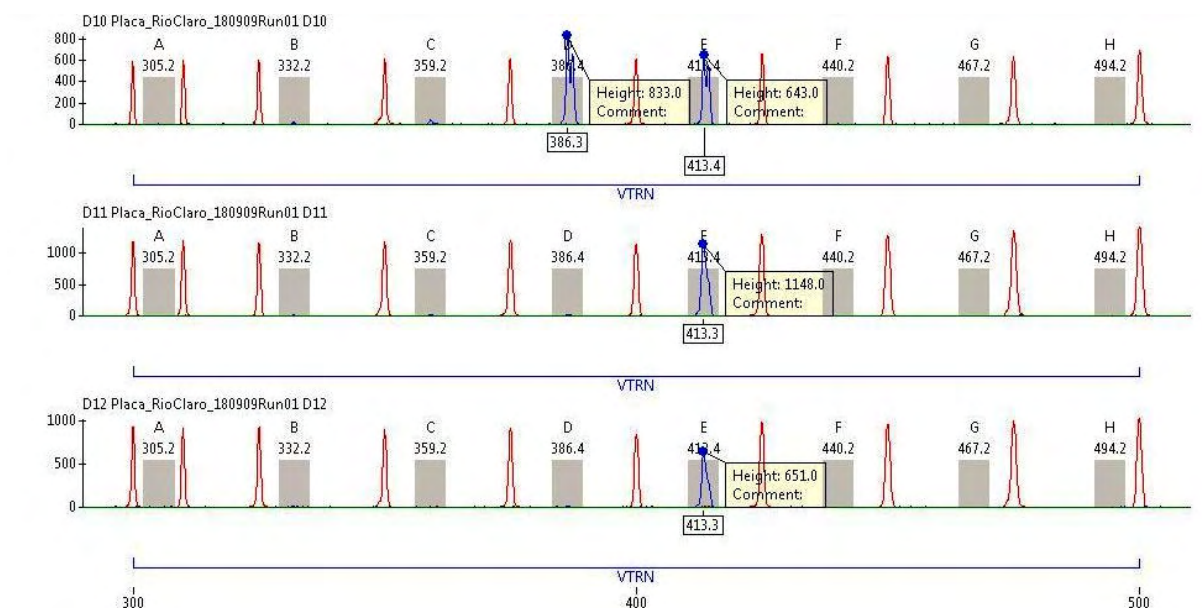


Figura 7. Espectro da genotipagem para o Íntron 4 do gene da eNOS.

Análise Estatística

Os resultados foram analisados através do software SPSS 13.0. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

Inicialmente, o teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para determinação da normalidade do conjunto de dados analisados, o qual indicou normalidade dos mesmos.

A partir disso, utilizou-se uma análise descritiva (média e erro-padrão), cujas foram aplicadas no teste t de Student independente e ANOVA *one-way*, seguida pelo post hoc de Tukey, para a comparação das médias entre os genótipos polimórficos e não polimórfico e entre os grupos normotenso e hipertenso, tanto para a posição -786, Íntron 4 e a interação de ambas.

Como forma de verificar uma possível relação entre os valores de pressão arterial e o nível de atividade física, foi utilizado o teste de coeficiente de correlação de Pearson. E por fim, o teste Qui-quadrado (χ^2) para indicar uma possível associação entre uma menor ocorrência de hipertensão arterial e estar situado no grupo “mais ativo” para o nível de atividade física.

5. RESULTADOS

5.1. Análise dos dados somente pelo genótipo da posição -786 do gene da eNOS:

As frequências genóticas para posição -786 do gene da eNOS estão apresentadas na Tabela 1 e figura 8. Para uma melhor análise estatística os genótipos foram divididos em dois grupos: não polimórfico (TT) e polimórfico, em que o genótipo TC foi agrupado ao genótipo CC formando o grupo TC+CC.

Tabela 1. Caracterização dos voluntários quanto ao seu genótipo para a posição -786 do gene da eNOS.

Genótipos	Número de voluntários (n)	Frequência genotípica (%)
TT	29	39
TC	37	50
CC	8	11
TC+CC	45	61
Total	74	100



Figura 8. Distribuição genotípica dos voluntários para a posição -786 do gene da eNOS

Os dados sumarizados na Tabela 2 demonstram que ambos os grupos apresentam como característica uma população de meia idade, com sobrepeso, e valores de circunferência abdominal dentro dos valores de normalidade, segundo o National Institutes of Health (1998). Comparando os valores de todos os parâmetros analisados (Idade, IMC, CA, PAS e PAD e Atividade Física em mets.min.d^{-1}), não verificamos diferença estatisticamente significativa entre os genótipos TT e TC+CC.

Tabela 2. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para a posição -786 do gene da eNOS.

Parâmetros	Genótipos		P
	TT (n= 29)	TC+CC (n= 45)	
Idade	53,62 \pm 1,99	55,62 \pm 1,20	0,36
IMC (Kg/m^2)	26,36 \pm 0,60	25,73 \pm 0,50	0,42
CA (cm)	88,86 \pm 1,76	88,26 \pm 1,21	0,77
PAS (mmHg)	118,59 \pm 3,13	114,66 \pm 2,21	0,29
PAD (mmHg)	76,89 \pm 1,64	75,31 \pm 1,49	0,49
Atividade Física (mets.min.d^{-1})	897,39 \pm 96,30	959,40 \pm 84,55	0,63

Valores descritos em média \pm erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica

Comparando os genótipos para a posição -786C do gene da eNOS quanto ao nível de atividade física, mais ativo e menos ativo, obteve-se diferença estatisticamente significativa para circunferência abdominal e pressão arterial diastólica no genótipo TT. Os dados são apresentados na Tabela 3:

Tabela 3. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os níveis de atividade física para os genótipos da posição -786 do gene da eNOS. Comparação intra-genótipo: mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipo			
	TT		TC+CC	
	Mais Ativo (n=8)	Menos Ativo (n=21)	Mais Ativo (n=17)	Menos Ativo (n=28)
Idade	55,88±4,2	52,76±2,27	57,47±1,47	54,50±1,7
IMC (Kg/m ²)	25,17±1,28	26,81±0,66	25,54±1,03	25,84±0,52
CA (cm)	82,18±3,44	91,4±1,81*	87,7±2,15	88,6±1,46
PAS (mmHg)	115,08±6,4	119,92±3,6	114,34±4,31	114,85±2,48
PAD (mmHg)	70,8±3,5	79,1±1,6*	72,33±2,81	77,12±1,64

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

*, estatisticamente diferente intra-genótipo, mais ativo comparado ao menos ativo.

5.2 Análise dos dados pelo genótipo da posição -786 associado à hipertensão arterial:

Os grupos do genótipo para a -786 do gene da eNOS foram subdivididos em:

Grupo Normotenso (NT) – n= 48 (65%) – figura 9A.

Grupo Hipertenso (HT) – n= 26 (35%) – figura 9B.

Tabela 4. Caracterização dos voluntários quanto ao seu genótipo para a posição -786 do gene da eNOS dentro do grupo normotenso e hipertenso.

Número de voluntários (Frequência genotípica em %)		
Genótipos	Normotensos	Hipertensos
TT	18 (37,5%)	11 (42,3%)
TC+CC	30 (62,5%)	15 (57,7%)
Total	48 (100%)	26 (100%)



Figura 9. Distribuição genotípica dos voluntários para a posição -786 do gene da eNOS para normotensos (A) e hipertensos (B).

Comparando todos os parâmetros intra-genótipos para o grupo normotenso e hipertenso como mostram as Tabelas 5 e 6, respectivamente, não foi observado diferença estatisticamente significativa entre eles.

Tabela 5. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para a posição -786 do gene da eNOS no grupo **normotenso (NT)**.

Parâmetros	Genótipos (NT)		P
	TT (n= 18)	TC+CC (n= 30)	
Idade	50,8±2,1	54±1,3	0,17
IMC (Kg/m ²)	26,02±0,61	25,42±0,48	0,45
CA (cm)	88,08±2,32	87,81±1,33	0,91
PAS (mmHg)	111,26±2,6	110,41±2,23	0,81
PAD (mmHg)	75,81±1,65	71,88±1,68	0,12
Atividade Física (mets.min.d ⁻¹)	881,58±113,57	900,68±92,95	0,89

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

Tabela 6. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para a posição -786 do gene da eNOS no grupo **hipertenso (HT)**.

Parâmetros	Genótipos (HT)		P
	TT (n= 11)	TC+CC (n= 15)	
Idade	58,18 ±3,65	58,73±2,35	0,89
IMC (Kg/m ²)	26,92±1,25	26,33±1,18	0,73
CA (cm)	90,13±2,78	89,16±2,51	0,80
PAS (mmHg)	130,56±5,38	123,16±4,23	0,28
PAD (mmHg)	78,66±3,42	82,17±2,06	0,36
Atividade Física (mets.min.d ⁻¹)	923,26±180,19	1076,84±173,60	0,55

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

Foram comparados os genótipos quanto ao nível de atividade física dentro do grupo normotenso e hipertenso (tabela 7 e 8). Verificamos diferença estatisticamente significativa na PAD do genótipo TC+CC entre o grupo mais ativo e menos ativo do grupo normotenso, sendo que o grupo mais ativo apresentou uma PAD menor. O mesmo resultado foi encontrado para hipertensos, porém o genótipo que apresentou essa diferença foi o TT. Dados estão sumarizados nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os genótipos para a posição -786 do gene da eNOS e seu nível de atividade física no grupo **normotenso (NT)**. Comparação intra-genótipos, mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipo (NT)			
	TT		TC+CC	
	Mais Ativo (n=4)	Menos Ativo (n=14)	Mais Ativo (n=12)	Menos Ativo (n=18)
Idade	52,75±5,02	50,29±2,41	56,33±1,49	52,56±1,9
IMC (Kg/m ²)	26,29±2,09	25,94±0,59	24,86±0,91	25,8±0,51
CA (cm)	80,37±6,04	90,28±2,23	87,37±2,00	88,11±1,82
PAS (mmHg)	110,41±7,01	111,51±2,99	107,4±3,09	112,4±3,08
PAD (mmHg)	72,5±5,11	76,76±1,60	67,8±2,86*	74,5±1,86

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica;

PAD: Pressão Arterial Diastólica.

*, estatisticamente diferente intra genótipo, mais ativo comparado ao menos ativo.

Tabela 8. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os genótipos para a posição -786 do gene da eNOS e seu nível de atividade física no grupo **hipertenso (HT)**. Comparação intra-genótipos, mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipo (HT)			
	TT		TC+CC	
	Mais Ativo (n=4)	Menos Ativo (n=7)	Mais Ativo (n=5)	Menos Ativo (n=10)
Idade	59±7,13	57,71±4,51	60,2±3,51	58±3,17
IMC (Kg/m ²)	24,05±1,57	28,56±1,47	27,15±2,85	25,92±1,18
CA (cm)	84±4,06	93,64±3,16	88,5±6,03	89,5±2,58
PAS (mmHg)	119,75±11,49	136,75±4,53	131,00±9,58	119,25±4,03
PAD (mmHg)	69,25±5,48	84,04±2,97*	83,13±3,5	81,7±2,67

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

*, estatisticamente diferente intra genótipo, mais ativo comparado ao menos ativo.

Foi feita a Correlação de Pearson entre pressão arterial e valores de atividade física em mets.min.d^{-1} : e houve correlação apenas para o grupo TT, tanto para normotensos quanto para hipertensos ($r = -0,53$, $p < 0,05$ e $r = -0,59$, $p < 0,05$ respectivamente).

Através da análise pelo teste Qui-quadrado, foi demonstrado que não há associação entre o polimorfismo da posição -786 com a patologia hipertensão arterial, seja ele isolado (sem divisão por patologia) ou dentro do grupo normotenso e hipertenso. O mesmo se repete para o Íntron 4.

5.3 Análise dos dados somente pelo genótipo do íntron 4 do gene da eNOS:

As freqüências genótípicas para o Íntron 4 do gene da eNOS estão apresentadas na tabela 9. Para uma melhor análise estatística, os genótipos foram divididos em dois grupos: não polimórfico (4b/b) e polimórfico em que o genótipo 4a/b foi agrupado ao genótipo 4a/a formando o grupo 4a/b+4a/a. Os dados estão ilustrados na figura 10.

Tabela 9. Caracterização dos voluntários quanto ao seu genótipo para o Íntron 4.

Genótipos	Número de voluntários (n)	%
4b/b	55	74,3
4a/b	18	24,4
4a/a	1	1,3
4a/b + 4a/a	19	25,7
Total	74	100

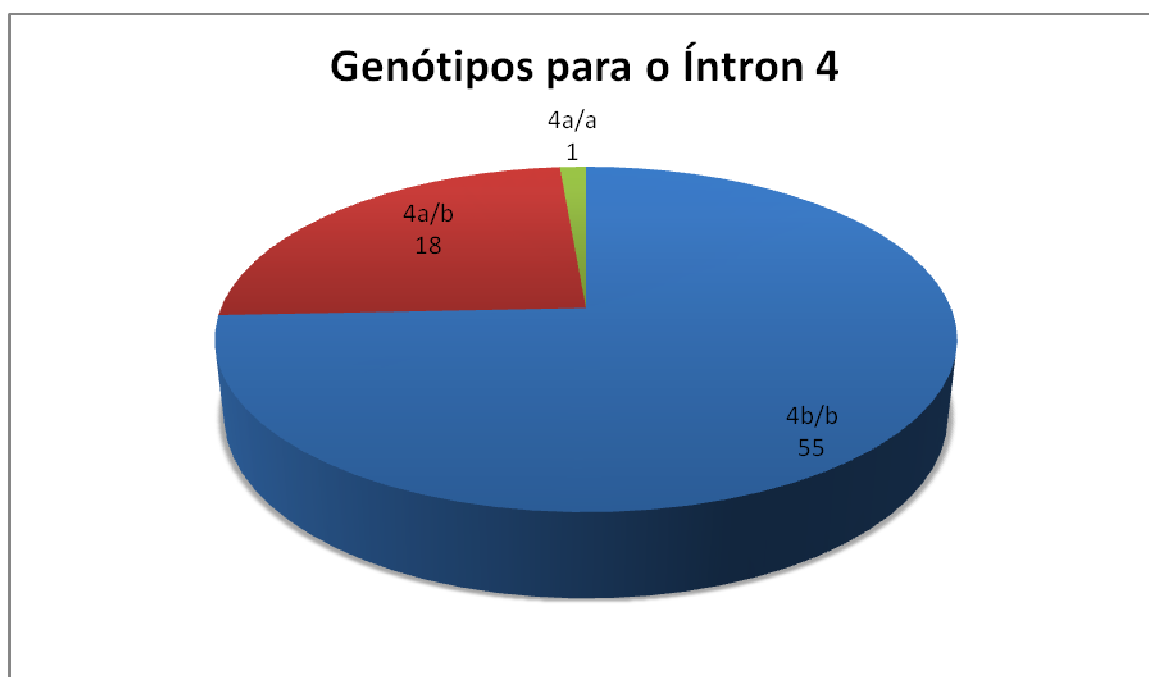


Figura 10. Distribuição genotípica dos voluntários para o Íntron 4 do gene da eNOS.

Os dados sumarizados na Tabela 10 mostram que ambos os grupos apresentam como característica uma população de meia idade, com sobrepeso, e valores de circunferência abdominal dentro dos valores de normalidade. Comparando os valores de todos os parâmetros analisados (Idade, IMC, CA, PAS e PAD e atividade física em mets.min.d^{-1}), verificamos diferença estatisticamente significativa entre os genótipos 4b/b e 4a/a + 4a/b para os valores de atividade física.

Tabela 10. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para o Íntron 4 do gene da eNOS.

Parâmetros	Genótipos		P
	4b/b (n= 55)	4a/a + 4a/b (n=19)	
Idade	54,27±1,25	56,47±2,06	0,37
IMC (Kg/m^2)	26,10±0,47	25,61±0,63	0,58
CA (cm)	88,95±1,20	87,18±1,76	0,44
PAS (mmHg)	115,53±2,19	118,14±3,23	0,53
PAD (mmHg)	75,86±1,24	76,14±2,44	0,91
Atividade Física (mets.min.d^{-1})	1006,57±77,39	728,18±400,26*	0,04

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

*, estatisticamente diferente intra genótipo.

Foram feitos testes para verificar a ocorrência, dentro dos dois genótipos, de correlação entre pressão arterial e valores de atividade física em mets.min.d^{-1} e possível associação entre a hipertensão arterial e o fato do indivíduo ser ativo ou inativo. Não foi encontrada correlação e nem associação entre essas variáveis.

Comparando os genótipos quanto ao nível de atividade física: mais ativo e menos ativo, observou-se significância apenas para a PAD do grupo polimórfico 4a/a + 4a/b, sumarizado na tabela 11.

Tabela 11. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os genótipos para o Íntron 4 e seu nível de atividade física. Comparação intra-genótipos, mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipo			
	4b/b		4a/a + 4a/b	
	Mais Ativo (n=21)	Menos Ativo (n=34)	Mais Ativo (n=4)	Menos Ativo (n=15)
Idade	56,48±1,9	52,91±1,62	59,5±1,93	55,67±2,55
IMC (Kg/m^2)	25,8±0,9	26,29±0,53	23,41±1,29	26,2±0,65
CA (cm)	86,66±2,09	90,36±1,43	82,12±3,77	88,53±1,9
PAS (mmHg)	115,01±4,17	115,84±2,48	112,29±2,34	119,7±3,99
PAD (mmHg)	72,98±2,34	77,64±1,34	66,00±5,71*	78,84±2,31

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

*, estatisticamente diferente intra-genótipo, mais ativo comparado ao menos ativo.

5.4. Análise dos dados pelo genótipo do Íntron 4 do gene da eNOS associado à hipertensão arterial:

Os genótipos do Íntron 4 do gene da eNOS, foram subdivididos (tabela 12) em:

Grupo Normotenso (NT) – n= 48 (65%) – figura 11A

Grupo Hipertenso (HT) – n= 26 (35%) – figura 11B

Tabela 12. Caracterização dos voluntários quanto ao seu genótipo para o intron 4 dentro do grupo normotenso e hipertenso.

Genótipos	Número de voluntários	
	Normotensos	Hipertensos
4b/b	36 (75%)	19 (73%)
4a/a + 4a/b	12 (25%)	7 (27%)
Total	48 (100%)	26 (100%)

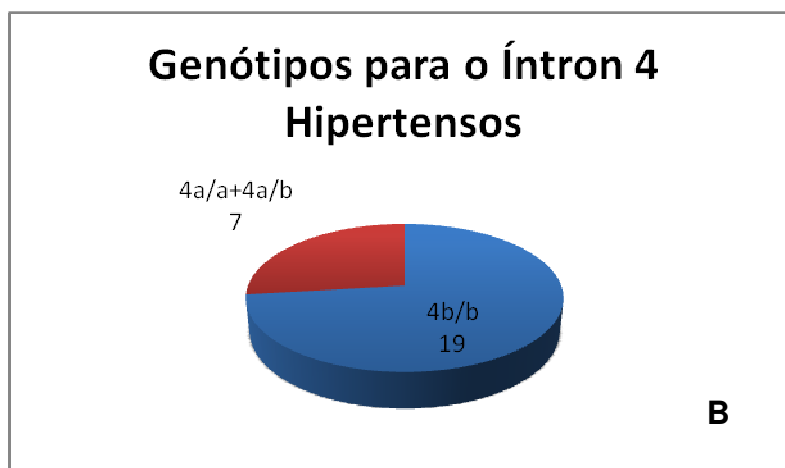
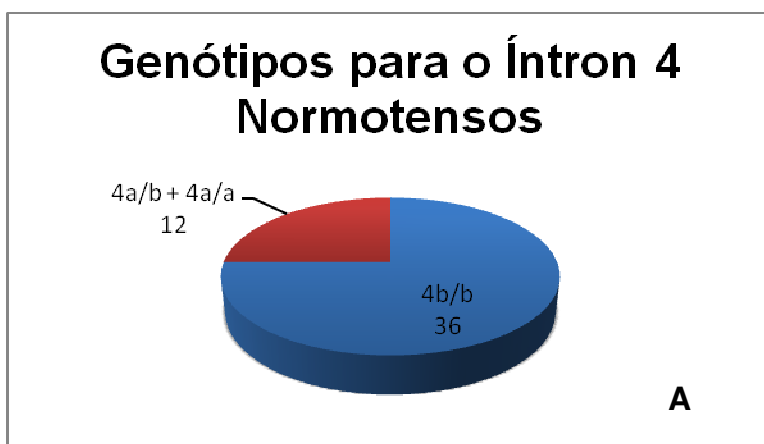


Figura 11. Distribuição genotípica dos voluntários para o Íntron 4 do gene da eNOS para normotensos (A) e hipertensos (B).

Foram comparados os genótipos quanto ao nível de atividade física dentro do grupo normotenso e hipertenso, em que não se verificou diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros. Dados estão sumarizados nas tabelas 13 e 14.

Tabela 13. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para o Íntron 4 do gene da eNOS no grupo normotenso (NT).

Parâmetros	Genótipos (NT)		P
	4b/b (n=36)	4a/a + 4a/b (n=12)	
Idade	52,69±1,37	53,33±2,19	0,81
IMC (Kg/m ²)	25,86±0,63	25,58±0,46	0,74
CA (cm)	88,19±1,48	87,08±1,8	0,69
PAS (mmHg)	110,38±2,07	111,79±2,98	0,72
PAD (mmHg)	73,55±1,36	72,77±2,93	0,79
Atividade Física (mets.min.d ⁻¹)	952,45±84,64	716,71±121,26	0,15

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

Tabela 14. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para o Íntron 4 do gene da eNOS no grupo hipertenso (HT).

Parâmetros	Genótipos (HT)		p
	4b/b (n=19)	4a/a + 4a/b (n=7)	
Idade	57,26±2,43	61,86±3,46	0,32
IMC (Kg/m ²)	27,1±1,04	25,17±1,39	0,32
CA (cm)	90,39±2,1	87,35±3,8	0,47
PAS (mmHg)	125,28±4,23	129,03±5,09	0,63
PAD (mmHg)	80,24±2,24	81,9±3,55	0,70
Atividade Física (mets.min.d ⁻¹)	1109,13±157,13	747,85±149,48	0,20

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica;

PAD: Pressão Arterial Diastólica.

Comparando os genótipos quanto ao nível de atividade física: mais ativo e menos ativo no grupo normotenso e hipertenso, obteve-se diferença estatisticamente significativa apenas para PAD dos genótipos 4a/a + 4a/b do grupo normotenso, sumarizado na tabela 15. Com relação ao grupo hipertenso não observou-se diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros do genótipo não polimórfico, sumarizados na tabela 16. Não foi feita a análise estatística do genótipo polimórfico do grupo hipertenso devido o grupo mais ativo apresentar um n=1.

Tabela 15. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os genótipos para o Íntron 4 do gene da eNOS e seu nível de atividade física no grupo **normotenso (NT)**. Comparação intra-genótipos, mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipo			
	4b/b		4a/a + 4a/b	
	Mais Ativo (n=13)	Menos Ativo (n=23)	Mais Ativo (n=3)	Menos Ativo (n=9)
Idade	54,38±1,82	51,74±1,88	60±2,64	51,11±2,4
IMC (Kg/m ²)	25,49±0,97	25,62±0,48	24,03±1,6	26,48±0,57
CA (cm)	85,77±5,58	89,56±1,77	85±3,46	87,77±2,18
PAS (mmHg)	107,41±3,38	112,05±2,6	111,38±3,05	111,92±3,94
PAD (mmHg)	70,51±2,61	75,26±1,47	62,44±6,32*	76,22±2,56

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

*, estatisticamente diferente intra-genótipo, mais ativo comparado ao menos ativo.

Tabela 16. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os genótipos para o Íntron 4 do gene da eNOS e seu nível de atividade física no grupo hipertenso (HT). Comparação intra-genótipos, mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipos (HT)			
	4b/b		4a/a + 4a/b	
	Mais Ativo (n=8)	Menos Ativo (n=11)	Mais Ativo (n=1)	Menos Ativo (n=6)
Idade	59,88±3,91	55,36±3,12	58	62,5±4,02
IMC (Kg/m ²)	26,30±1,85	27,68±1,23	21,54	25,78±1,48
CA (cm)	88,12±3,73	92,04±2,45	73,5	89,66±3,68
PAS (mmHg)	127,37±7,98	123,77±4,76	115	131,37±5,35
PAD (mmHg)	77±4,3	82,6±2,22	76,66	82,77±4,07

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

5.5 Análise dos dados pela interação dos genótipos da posição -786 com os do Íntron 4:

Os grupos foram divididos em não-polimórficos para a posição -786 e Íntron 4 (TT+4b/b), com apenas 01 polimorfismo para as posições (TT - 4a/b+4a/a; TC+CC - 4b/b) e com o polimorfismo para ambas as posições (TC+CC - 4a/b+4a/a) (tabela 17). Os dados estão ilustrados na figura 11.

Tabela 17. Caracterização dos voluntários quanto ao seu genótipo para a posição -786 e Íntron 4 do gene da eNOS.

Genótipos	Número de voluntários (n)	Frequência genotípica (%)
TT-4b/b	26	35
TT-4a/b+4a/a; TC+CC-4b/b	32	43
TC+CC-4a/b+4a/a	16	22
Total	74	100

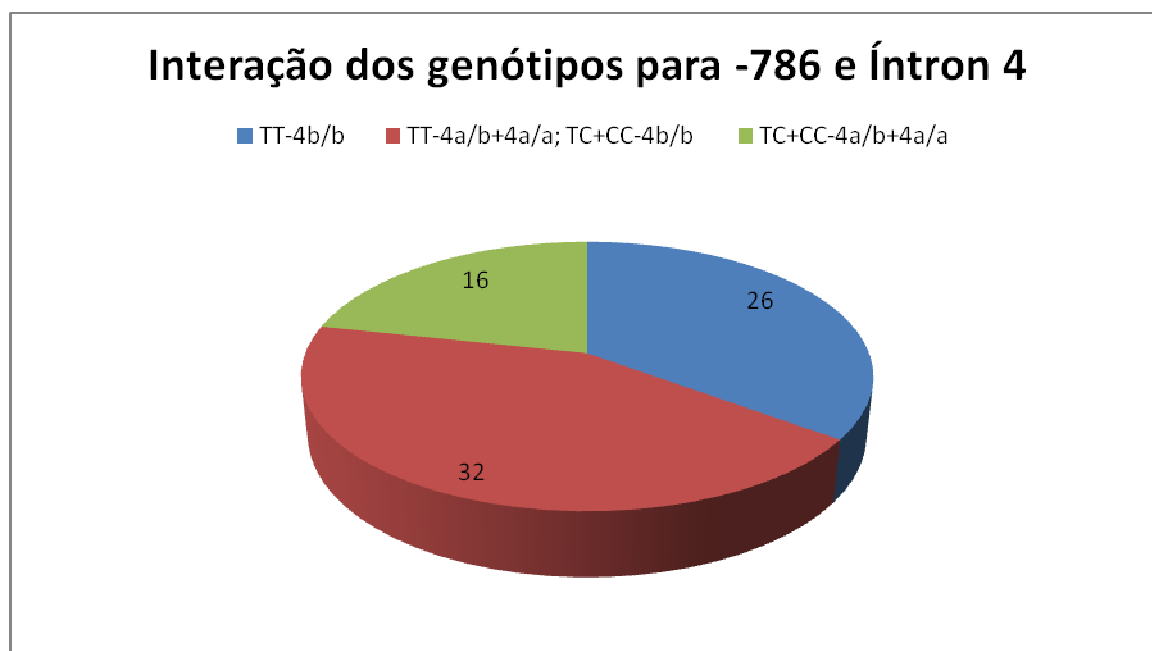


Figura 12. Distribuição genotípica dos voluntários para a interação -786 e Íntron 4 do gene da eNOS. A cor azul representa indivíduos sem a presença de polimorfismo, a cor verde representa indivíduos com a presença de ambos os polimorfismos, e a cor vermelha, representa indivíduos com a presença de pelo menos um polimorfismo.

Os dados que estão sumarizados na tabela 18 mostram que ambos os grupos apresentam como característica uma população de meia idade, com sobrepeso, e valores de circunferência abdominal dentro dos valores de normalidade. Comparando os valores de todos os parâmetros analisados (Idade, IMC, CA, PAS e PAD e atividade física em mets.min.d^{-1}), não verificamos diferença estatisticamente significativa entre os genótipos.

Tabela 18. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para a posição -786 e intron 4.

Parâmetros	Genótipos			p
	TT-4b/b (n = 26)	TT-4a/b+4a/a; TC+CC- 4b/b (n =32)	TC+CC- 4a/b+4a/a (n=16)	
Idade	53,31±2,06	55,25±1,5	56,5±2,08	0,52
IMC (Kg/m^2)	26,14±0,64	26,27±0,65	25,11±0,64	0,50
CA (cm)	88,69±1,92	89,29±1,44	86,59±1,93	0,59
PAS (mmHg)	116,91±3,17	116,05±3,06	115,34±2,95	0,95
PAD (mmHg)	75,83±1,69	76,84±1,76	74,27±2,62	0,68
Atividade Física (mets.min.d^{-1})	931,57±105,42	1029,50±104,80	752,01±108,26	0,25

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC: Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

Quando se comparou os genótipos quanto ao nível de atividade física: mais ativo e menos ativo, observou-se diferença estatisticamente significativa somente no genótipo TT - 4b/b, o qual apresentou menor CA e PAD para o grupo mais ativo quando comparado com o menos ativo (tabela 19).

Tabela 19. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os genótipos para a posição -786 e Íntron 4 e seu nível de atividade física. Comparação intra-genótipos, mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipos					
	TT -4b/b		TT-4a/b+4a/a; TC+CC-4b/b		TC+CC-4a/b+4a/a	
	Mais Ativo (n=8)	Menos Ativo (n=18)	Mais Ativo (n=13)	Menos Ativo (n=19)	Mais Ativo (n=4)	Menos Ativo (n=12)
Idade	50,8±4,2	52,1±2,3	56,8±1,8	54,1±2,2	59,5±3,8	55,5±2,6
IMC (Kg/m ²)	25,2±1,2	26,6±0,7	26,2±1,2	26,3±0,7	23,4±1,2	25,7±0,6
CA (cm)	82,2±3,4	91,6±2,0*	89,4±2,4	89,2±1,8	82,1±3,7	88,1±2,17
PAS (mmHg)	115±6,4	117,7±6,7	114,9±5,6	116,7±3,5	112,3±2,3	116,3±3,8
PAD (mmHg)	70,8±3,5	78,0±1,7*	74,3±3,1	78,6±2,0	66±5,7	77±2,6

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC : Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

*, estatisticamente diferente intra-genótipo, mais ativo comparado ao menos ativo.

5.6 Análise dos dados pela interação dos genótipos da posição -786 com os do Íntron 4 associados à hipertensão arterial:

Podemos observar que a presença ou não do polimorfismo para o gene da eNOS na posição -786C e/ou para o Íntron 4 não apresenta diferença entre os grupos normotensos e hipertensos, em termos percentuais (tabela 20). Os dados estão ilustrados na figura 13.

Tabela 20. Caracterização dos voluntários quanto ao seu genótipo para a posição -786 e íntron 4 do gene da eNOS no grupo normotenso e hipertenso.

Genótipos	Número de voluntários	
	Normotensos	Hipertensos
TT -4b/b	17 (35,4%)	9 (34,6%)
TT-4a/b+4a/a; TC+CC-4b/b	20 (41,6%)	12 (46,1%)
TC+CC-4a/b+4a/a	11 (23%)	5 (19,3%)
Total	48 (100%)	26 (100%)

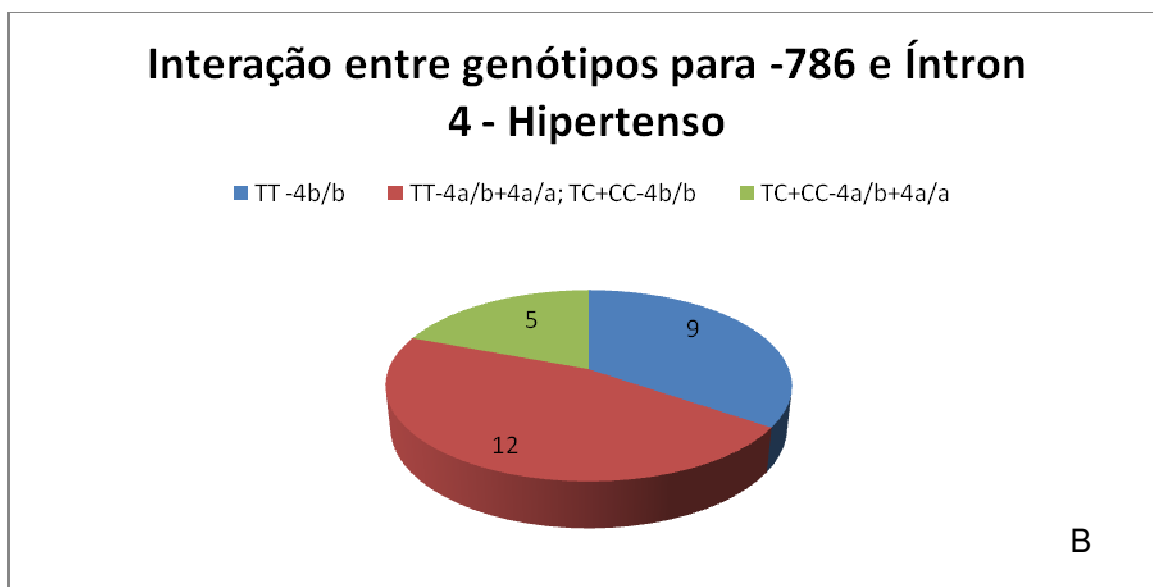
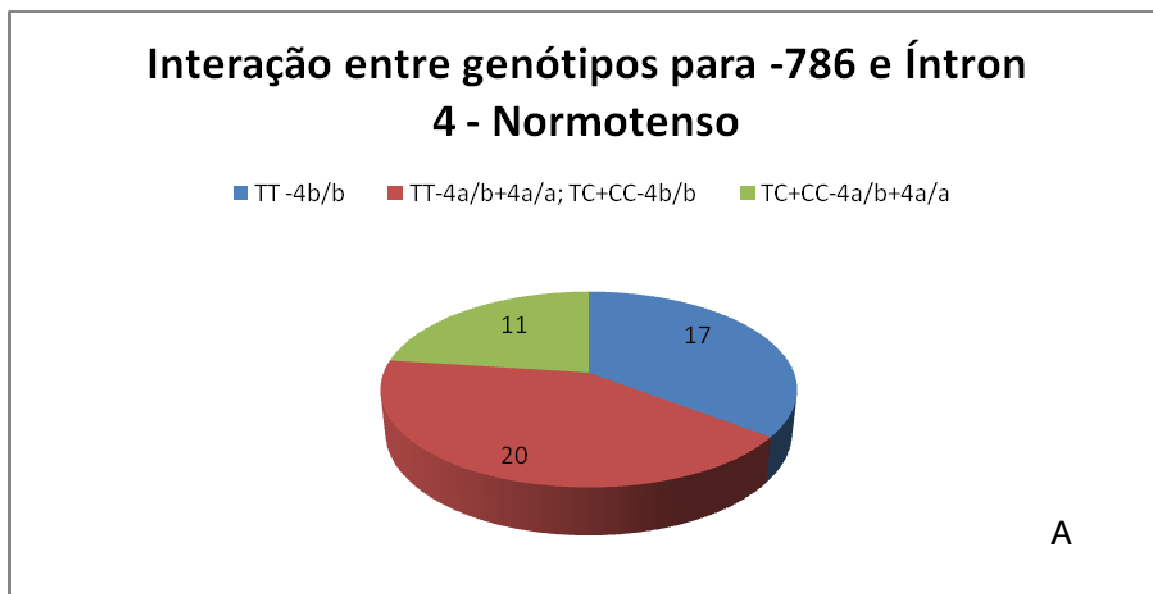


Figura 13. Distribuição genotípica dos voluntários para a interação -786 e Íntron 4 do gene da eNOS para normotenso (A) e hipertenso (B). A cor azul representa indivíduos sem a presença de polimorfismo, a cor verde representa indivíduos com a presença de ambos os polimorfismos, e a cor vermelha, representa indivíduos com a presença de pelo menos 01 polimorfismo.

Comparando todos os parâmetros intra-genótipos no grupo normotenso e hipertenso, não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa entre eles, o que demonstra homogeneidade da amostra. Os dados estão sumarizados nas tabelas 21 e 22.

Tabela 21. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para a posição -786 e intron 4 do gene da eNOS no grupo **normotenso (NT)**.

Parâmetros	Genótipos (NT)			p
	TT - 4b/b (n= 17)	TT - 4a/b+4a/a; TC+CC - 4b/b (n= 20)	TC+CC- 4a/b+4a/a (n= 11)	
Idade	51,35±2,18	53,30±1,73	54,36±2,12	0,60
IMC (Kg/m ²)	26,05±0,65	25,17±0,61	25,89±0,69	0,57
CA (cm)	88,47±2,42	87,62±1,79	87,59±1,9	0,94
PAS (mmHg)	111,08±2,85	109,97±2,89	111,56±3,26	0,93
PAD (mmHg)	75,47±1,72	72,32±1,99	71,96±3,09	0,46
Atividade				
Física (mets.min.d ⁻¹)	897,84±119,22	981,5±117,13	726,86±132,36	0,39

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC : Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

Tabela 22. Parâmetros antropométricos, cardiovasculares e valores de atividade física em adultos segundo os genótipos para a posição -786 e Íntron 4 do gene da eNOS no grupo **hipertenso (HT)**.

Parâmetros	Genótipos (HT)			p
	TT -4b/b (n = 9)	TT-4a/b+4a/a; TC+CC-4b/b (n= 12)	TC+CC- 4a/b+4a/a (n= 5)	
Idade	57±4,23	58,5±4,62	61,2±4,37	0,77
IMC (Kg/m ²)	26,32±1,46	28,09±1,26	23,4±1,11	0,12
CA (cm)	89,11±3,31	92,08±2,33	84,4±4,83	0,31
PAS (mmHg)	127,92±6,09	126,17±5,6	123,66±4,58	0,91
PAD (mmHg)	76,51±3,83	84,38±1,89	79,33±4,52	0,16
Atividade Física (mets.min.d ⁻¹)	995,29±214,13	1109,51±205,22	807,34±207,72	0,68

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC : Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

Comparando os genótipos quanto ao nível de atividade física dentro do grupo normotenso e hipertenso, verificou-se para o grupo normotenso diferença estatisticamente significativa somente para os valores de PAD do genótipo totalmente polimórfico (TC+CC-4a/b+4a/a) comparando-se o grupo mais ativo e o menos ativo.

Observamos que o grupo mais ativo apresentou menor valor de PAD. Já para o grupo hipertenso não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos TT- 4b/b e TT-4a/b+4a/a; TC+CC-4b/b. O grupo TC+CC-4a/b+4a/a não foi

analisado estatisticamente devido ao grupo ativo apresentar apenas um voluntário. Os dados estão sumarizados nas tabelas 23 e 24.

Tabela 23. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os genótipos para a posição -786 e íntron 4 do gene da eNOS e seu nível de atividade física no grupo **normotenso (NT)**. Comparação intra-genótipos, mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipos (NT)					
	TT-4b/b		TT-4a/b+4a/a; TC+CC-4b/b		TC+CC-4a/b+4a/a	
	Mais Ativo (n=4)	Menos Ativo (n=13)	Mais Ativo (n=9)	Menos Ativo (n=11)	Mais Ativo (n=3)	Menos Ativo (n=8)
Idade	52,7±5,0	50,9±2,5	55,1±1,6	51,8±2,8	60±2,6	52,2±2,4
IMC (Kg/m ²)	26,3±2,0	25,9±0,6	25,1±1,1	25,2±0,7	24±1,6	26,6±0,6
CA (cm)	80,4±6,0	90,9±2,3	88,1±2,4	87,2±2,6	85±3,4	88,5±2,3
PAS (mmHg)	110,4±7	111,3±3,2	106,0±3,9	113,1±4,0	111,4±3,0	111,6±4,4
PAD (mmHg)	75,5±5,1	76,38±1,7	69,62±3,1	74,53±2,4	62,44±6,3*	75,54±2,8

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC : Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica;

PAD: Pressão Arterial Diastólica.

*, estatisticamente diferente intra genótipo, mais ativo comparado ao menos ativo.

Tabela 24. Parâmetros antropométricos e cardiovasculares em adultos segundo os genótipos para a posição -786 e Íntron 4 do gene da eNOS e seu nível de atividade física no grupo TC+CC-4a/b+4a/a **hipertenso (HT)**. Comparação intra-grupos, mais ativo e menos ativo.

Parâmetros	Genótipos (HT)					
	TT-4b/b		TT-4a/b+4a/a; TC+CC-4b/b		TC+CC-4a/b+4a/a	
	Mais Ativo (n=4)	Menos Ativo (n=5)	Mais Ativo (n=4)	Menos Ativo (n=8)	Mais Ativo (n=1)	Menos Ativo (n=4)
Idade	59±7,1	55,4±5,7	60,7±4,5	57,4±3,4	58	62±5,5
IMC (Kg/m ²)	24,0±1,6	28,1±2,0	28,5±3,2	27,8±1,2	21,5	23,8±1,3
CA (cm)	84±4,0	93,2±4,5	92,2±6,1	92±2,2	73,5	87,1±5,1
PAS (mmHg)	119,7±11,5	134,46±5,5	135±11,2	121,76±6,2	115	125,83±5,2
PAD (mmHg)	69,25±5,5	82,33±3,9	84,75±4	84,2±2,2	76,6	80±5,8

Valores descritos em média±erro-padrão da média.

IMC : Índice de Massa Corpórea; CA: Circunferência Abdominal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

5.7 Sumário dos resultados

Genótipos para a posição -786 do gene da eNOS:

TT		TC+CC	
GERAL		GERAL	
Mais ativo	↓ PAD	—	
Mais ativo	↓ CA	—	
Subgrupo		Subgrupo	
Mais ativo (HT)	↓ PAD	Mais ativo NT	↓ PAD

Genótipos do Íntron 4 do gene da eNOS:

4b/b		4a/a + 4a/b	
GERAL		GERAL	
—	—	Mais ativo	↓ PAD
Subgrupo		Subgrupo	
—	—	Mais ativo - NT	↓ PAD

Interação dos genótipos da posição -786 com os do Íntron 4 do gene da eNOS:

TT - 4b/b		TC+CC-4a/b+4a/a	
GERAL		GERAL	
Mais ativo	↓ PAD	—	—
Mais ativo	↓ CA		
Subgrupo		Subgrupo	
—	—	Mais ativo NT	↓ PAD

6. DISCUSSÃO

Ainda há muita discussão sobre a associação ou não do polimorfismo da eNOS com a hipertensão arterial. Estudos demonstram associação positiva entre a incidência de hipertensão arterial e a presença de polimorfismo para o gene da eNOS na posição -786 (HYNDMAN et al., 2002) e para o Íntron 4 (UWABO et al., 1998; YOKOYAMA et al., 2000; PULKKINEN et al., 2000). Além disso, estudos avaliando a reatividade vascular, verificaram que indivíduos com polimorfismo para o gene da eNOS para a posição -786 apresentam redução da resposta vasodilatadora dependente do endotélio (ROSSI et al., 2003). Em nosso estudo não foi encontrada associação entre a incidência de hipertensão arterial e a presença de polimorfismo para o gene da eNOS, tanto para a posição -786 quanto para o Íntron 4. Estes dados reforçam resultados anteriores obtidos para outras populações, principalmente a japonesa (MIYAMOTO et al., 1998; KAJIYAMA et al.; 2000; SHOJI et al., 2000; TSUJITA et al., 2001) e caucasianos (BENJAFIELD & MORRIS, 2000).

Diversos trabalhos associam uma diminuição da pressão arterial em vista do exercício físico e mostram que quanto maior for seu nível de atividade física menor serão suas chances de desenvolver uma doença cardiovascular. Os mecanismos pelos quais ocorre redução da pressão arterial em resposta a atividade física são múltiplos e complexos. Acredita-se que a liberação de substâncias vasodilatadoras pelas células endoteliais é um dos principais mecanismos da hipotensão após exercício físico. De fato, o aumento do fluxo sanguíneo através do shear stress é um poderoso estímulo para a liberação do NO pelas células endoteliais (ZANESCO & ANTUNES, 2007). Além disso, estudos mostram que a presença de polimorfismo da eNOS na posição -786 e Íntron 4 provoca redução na produção de NO (MYAMOTO et al, 2000; TSUKADA et al., 1998).

Relacionado aos polimorfismos da posição -786 e Íntron 4 da eNOS com a atividade física, apenas um trabalho foi publicado, em que foi demonstrado uma

associação benéfica da atividade física com uma menor pressão arterial no grupo polimórfico apenas para o Íntron 4 com médio ou alto nível de atividade física igualando à pressão sistólica do grupo não-polimórfico em população japonesa (KIMURA et.al, 2003). Além disso, trabalho prévio mostrou que a presença de polimorfismo para o gene da eNOS poderia afetar os efeitos benéficos produzidos pelo treinamento físico em mulheres, uma vez que a produção do NO poderia estar prejudicada (DATA et al., 2003). Apesar de o nosso estudo ser transversal quanto à atividade física desenvolvida, podemos notar que o nível de atividade física dos indivíduos analisados foi diretamente associado à menor valor de circunferência abdominal e de pressão arterial diastólica. No entanto, quando avaliamos a influência da genética sobre os valores de pressão arterial e o nível de atividade física, não encontramos nenhuma correlação em ambas as posições.

Quando avaliamos a interação dos genótipos para a posição -786 e Íntron 4 podemos novamente observar que os indivíduos mais ativos possuem menores valores de pressão arterial, mas não foi genótipo-dependente. A interação entre os dois genótipos polimórficos não afetou os valores de pressão arterial quando comparada com os genótipos individualizados.

7. CONCLUSÕES

Nosso estudo mostra que não existe relação entre a presença de polimorfismos da eNOS e a prevalência de hipertensão arterial na população estudada, tanto para a posição -786, quanto para o Íntron 4, bem como quando associamos os dois polimorfismos. Por outro lado, o maior nível de atividade física mostrou ser benéfica para o sistema cardiovascular e melhora dos valores de circunferência abdominal, um importante fator de risco para a síndrome metabólica, independente do genótipo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINSWORTH, B.E.; HASKELL, W.L.; WHITT, M.C.; IRWIN, M.L.; SWARTZ, A.M.; STRATH, S.J.; O'BRIEN, W.L.; BASSETT, D. JR.; SCHMITZ, K.H.; EMPLAINCOURT, P.O.; JACOBS, D.R. JR.; LEON, A. S. Compendium of Physical Activities: an update of activity codes and MET intensities [Measurement of Moderate Physical Activity: Advances in Assessment Techniques]. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 32(9) Supplement pp S498-S516, 2000.

AMBROS, V. MicroRNA Pathways in Flies and Worms Growth, Death, Fat, Stress, and Timing. *Cell*. 113, 673–676, 2003.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM). *Manual do ACSM para teste de esforço e prescrição de exercício*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.

BENJAFIELD, A.V.; MORRIS, B.J. Association analyses of endotelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in essential hypertension. *Am J Hypertens*. 13(9):994-8, 2000.

BLOCH, K.V.; RODRIGUES, C.S.; FISZMAN, R. Epidemiologia dos fatores de risco para hipertensão arterial – uma revisão crítica da literatura brasileira. *Ver. Bras. Hipertens*. 13(2): 134-43, 2006.

CADE, R.; MARS, D.; WAGEMAKER, H.; ZAUNER, C.; PACKER, D.; PRIVETTE, M.; CADE, M.; PETERSON, J.; HOOD-LEWIS, D. Effect of aerobic exercise training on patients with systemic arterial hypertension. *Am J Med*. 77(5):785-90, 1984.

DATA, S.A.; ROLTSCH, M.H.; HAND, B.; FERRELL, R.E.; PARK, J.J.; BROWN, M.D. eNOS T-786C Genotype, Physical Activity and Peak forearm Blood Flow in Females. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 35:1991-7, 2003.

DENGEL, D.R.; BROWN, M.D.; FERRELL, R.E.; REYNOLDS, T.H.; SUPIANO, M.A. A preliminary study on T-786C endothelial nitric oxide synthase gene and renal hemodynamic and blood pressure responses to dietary sodium. *Physiol Res*, 56, 393-401, 2007.

DÓREA, E.L.; LOTUFO, P.A. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica. *Hipertensão*.7:86-9, 2004.

DUNCAN, J.J.; FARR, J.E.; UPTON, S.J.; HAGAN, R.D.; OGLESBY, M.E.; BLAIR, S.N. The effects of aerobic exercise on plasma catecholamines and blood pressure in-patients with mild essential hypertension. *JAMA*, 254: 2609-13, 1985.

FAGARD, R.H.. Physical activity, physical fitness and the incidence of hypertension. *J Hypertens*. 23:265-7, 2005.

HARRIS M.M., STEVENS J., THOMAS N., SCHREINER P., FOLSOM A.R. Associations of fat distribution and obesity with hypertension in a bi-ethnic population: the ARIC Study. *Obes Res*. 8:516-24, 2000.

HUANG, P.L.; HUANG, Z.; MASHIMOTO, H.; BLOCH, K.D.; MOSKOWITZ, M.A.; BEVAN, J.A.; FISHMAN, M.C. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature*. 377:239-242, 1995.

HYNDMAN, M.E.; PARSONS, H.G.; VERMA, S.; BRIDGE, P.J.; EDWORTHY, S.; JONES, C.; LONN, E.; CHARBONNEAU, F.; ANDERSON, T.J. The T-786→C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension. *Hypertension*. 39(4):919-22, 2002.

IGNARRO, L.J.; BUGA, G.M.; WOOD, K.S.; BYRNS, R.E.; CHAUDHURI, G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 9265-9269, 1987.

JEEROOBURKHAN, N.; JONES, L.C.; BUJAC, S.; et al. Genetic and environmental determinants of plasma nitrogen oxides and risk of ischemic heart disease. *Hypertension*. 38:1054-61, 2001.

KAJIYAMA, N.; SAITO, Y.; MIYAMOTO, Y et al. Lack of association between T-786→C mutation in the flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene and essential hypertension. *J Hypertens*. 23:561-5, 2000.

KAWASAKI, H.; TAIRA, K. Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature* 431, 211–217, 2004.

KENNEY, M.J.; SEALS, D.R. Post exercise hypotension. *Hypertension*. 22:653-664, 1993.

KIMURA, T.; YOKOAMA, T.; MATSUMURA, Y.; YOSHIKE, N.; DATE, C.; MURAMATSU, M.; TANAKA, H. NOS3 Genotype-dependent correlation between blood pressure and physical activity. *Hypertension*. 41:355-360, 2003.

KINGWELL, B.A. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB J*. 14:1685-96, 2000.

KRIEGER, J.E.; PEREIRA, A.C. Genética da Hipertensão Arterial. In: BRANDÃO, A. A.; AMODEO, C.; NOBRE, F.; FUCHS, F. D. *Hipertensão*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p.17 – 24.

LATERZA, M.C.; DE MATOS, L.D.; TROMBETTA, I.C.; BRAGA, A.M.; ROVEDA, F.; ALVES, M.J.; KRIEGER, E.M.; NEGRÃO, C. E.; RONDON, M. U. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. *Hypertension*. 2007 49(6):1298-306.

LEAN, M.E.J.; HAN, T.S.; MORRISON, C.E. Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. *BMJ*. 311:158-61, 1995.

LIU, X.; YUE, P.; KHURI, F.R.; SUN, S.Y.. p53 upregulates death receptor 4 expression through an intronic p53 binding site. *Câncer Res*. 64,5078-5083. 2004.

MARRONI, A.S. Consistent interethnic differences in the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide synthase genetic polymorphism. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*. 12(3), 177-82, 2005.

MARSDEN, P.A.; HENG, H.H.; SCHERER, S.W.; STEWART, R.J.; HALL A.V.; SHI, X.M.; TSUI, L.C, SCHAPPERT, K.T. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem.* 268: 17478-17488, 1993.

MELINO, G. BERNASSOLA. F, KNIGHT, R.A.; CORASANTINI, M.T.; NISTICO, G.; FINAZZI-AGRO, A. S-nitrosylation regulates apoptosis. *Nature.* 388:432-433, 1997.

MIYAMOTO, Y.; SAITO, Y.; KAJIYAMA, N.; YOSHIMURA, M.; SHIMASAKI, Y.; NAKAYAMA, M.; KAMITANI, S.; HARADA, M.; ISHIKAWA, M.; KUWAHARA, K.; OGAWA, E.; HAMANAKA, I.; TAKAHASHI, N.; KANESHIGE, T.; TERAOKA, H.; AKAMIZU, T.; AZUMA, N.; YOSHIMASA, Y.; YOSHIMASA, T.; ITOH, H.; MASUDA, I.; YASUE, H.; NAKAO K. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. *Hypertension.* 32:3-8, 1998.

MIYAMOTO, Y.; SAITO, Y.; NAKAYAMA, M.; SHIMASAKI, Y.; YOSHIMURA, T.; YOSHIMURA, M.; HARADA, M.; KAJIYAMA, N.; KISHIMOTO, I.; KUWAHARA, K.; HINO, J.; OGAWA, E.; HAMANAKA, I.; KAMITANI, S.; TAKAHASHI, N.; KAWAKAMI, R.; KANGAWA, K.; YASUE, H.; NAKAO, K. Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T → C mutation associated with coronary spastic angina. *Hum Mol Genet.* 9:2629-2637, 2000.

MOMBOULI, J.V.; VANHOUTTE, P.M. Endothelial dysfunction: from physiology pathophysiology to therapy. *J. Mol Cell Cardiol.* 31:61-74, 1999.

MONCADA, S. Nitric Oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. *An New York Acad. Sci.* 811 : 60-7, 1997.

MONCADA, S.; HIGGS, E. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Review.* 43(2): 109-42, 1991.

MORITA, T.; ITO, H.; SUEHIRO, T.; TAHARA, K.; MATSUMORI, A.; CHIKAWAZA, H.; NAKAUCHI, Y.; NISHIYA, K.; HASHIMOTO, K. Effect of a polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene in Japanese patients with IgA nephropathy. *Clin Nephrol.* 52:203-209, 1999.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res.*;6 (Supl 2):51-209. 1998.

NAKAYAMA, M.; YASUE, H.; YOSHIMURA, M.; SHIMASAKI, Y.; KUGIYAMA, K.; OGAWA, H.; MOTOYAMA, T.; SAITO, Y.; OGAWA, Y.; MIYAMOTO, Y.; NAKAO, K. T-786 → C mutation in the 5' - flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation.* 99:2864-2870, 1999.

NEGRÃO, C.E.; BARRETTO, A.C.P. *Cardiologia do exercício do atleta ao cardiopata.* Manole, São Paulo, 2ª edição, 2006.

ODAWARA, M.; SASAKI, K.; TACHI, Y.; YAMASHITA, K. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and coronary heart disease in Japanese NIDDM. *Diabetologia.* 41:365-366, 1998.

OHASHI, Y.; KAWASHIMA, S.; HIRATA, K.; YAMASHITA, T.; ISHIDA, T.; INOUE, N.; SAKODA, T.; KURIHARA, H.; YAZAKI, Y.; YOKOYAMA, M. Hypotension and reduced nitric oxide-elicited vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. *J Clin. Invest.* 102:2061-2071, 1998.

Organização Pan-Americana da Saúde. Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde – *Organização Mundial da Saúde*; 2003.

PAFFENBARGER, R.S. JR.; JUNG, D.L.; LEUNG, R.W.; HYDE, R.T.. Physical activity and hypertension: an epidemiological view. *Ann Med.* 23:319–327, 1991.

PULKKINEN, A.; VIITANEN, L.; KAREINEN, A.; LEHTO, S.; VAUHKONEN, I.; LAAKSO, M. Intron 4 polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with elevated blood pressure in type 2 diabetic patients with coronary heart disease. *J mol Med.* 78:372-379, 2000.

ROSSI, G. P.; TADDEI, S.; VIRDIS, A.; CAVALLIN, M.; GHIADONI, L.; FAVILLA, S.; VERSARI, D.; SUDANO, I.; PESSINA, A. C.; SALVETTI, A. The T-786C and Glu298Asp polymorphisms of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow responses of Caucasian hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol.* 19;41(6):938-45, 2003.

SAIKI, R.K.; SCHARF, S.; FALOONA, F.; MULLIS, K.B.; HORN, G.T.; ERLICH H.A., ARNHEIM N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. 1985. *Biotechnology.* 24:476-80, 1992.

SHESELY, E.G.; MAEDA, N.; KIM, H.S.; DESAI, K.M.; KREGE, J.H.; LAUBACH, V.E.; SHERMAN, P.A.; SESSA, W.C.; SMITHIES, O. Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 12;93(23):13176-81. 1996.

SHOJI, M.; TSUTAYA, S.; SAITO, R.; et al. Positive association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with hypertension in northern Japan. *Life Sci.*; 66:2257-62, 2000.

SIMKIN-SILVERMAN, L.; WING, R. R.; HANSEN, D.H.; KLEM, M.L.; PASAGIAN-MACAULAY, A.P.; MEILAHN, E.N.; KULLER, L.H. Prevention of cardiovascular risk factor elevations in healthy premenopausal women. *Preventive Medicine*, 24:509-517, 1995.

SPOTO, B.; BENEDETTO, F.A.; TESTA, A.; TRIPEPI, G.; MALLAMACI, F.; MAAS, R.; BOEGER, R.H.; ZOCCALI, C. An additive effect of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms contributes to the severity of atherosclerosis in patients on dialysis. *Am J Hypertens*, 20, 758-763, 2007.

TAYLOR, H.L.; JACOBS JR., D.R.; SCHUCKER, B.; KNUDSEN, J.; LEON, A.S.; DEBACKER, G. A questionnaire for the assessment of leisure-time physical activities. *Journal Chron. Dis.* 31:741-755, 1978.

TSUJITA, Y.; BABA, S.; YAMAUCHI R.; MANNAMI, T.; Kinoshita, M.; Yamamoto, R.; Katsuya, T.; Higaki, J.; Ogiwara, T.; Ogata, J.; Iwai, N.. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: The Suita Study. *J Hypertens*. Nov; 19(11):1941-8, 2001.

TSUKADA, T.; YOKOYAMA, K.; ARAI, T.; TAKEMOTO, F.; HARA,S.; YAMADA, A.; KAWAGUCHI, Y.; HOSOYA,T.; IGARI, J. Evidence of association of the eNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans. *Biophys Res Commun*. 245:190-193, 1998.

UWABO, J.; SOMA, M.; NAKAYAMA, T.; KANMATSUSE, K. Association of a variable number of tandem repeats in the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene with essential hypertension in Japanese. *Am J Hypertens*. 11:125-128, 1998.

V Diretrizes Brasileira de Hipertensão, São Paulo. 2006.

VANHOUTTE, P.M. Endothelial control of vasomotor function – From health to coronary disease. *Circ. J*. 67: 572-5, 2003.

VIRTS, E.L.; RASCHKE, W.C. The role of intron sequences in high level expression from CD45 cDNA constructs. *J. Biol. Quim*. Jun 8;276(23):19913-20. 2001.

WANG, X.L.; SIM, A.S.; BADENHOP, R.F.; McCREDIE, R.M.; WILCKEN, D.E. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Nat Med*. 2:41-45. 1996.

WANG, X.L.; SIM, A.S.; WANG, M.X., et al. Genotype dependent and cigarette specific effects on endothelial nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *FEBS Lett*. 471:45-50, 2000.

WANG, X.L.; WANG, J. Endothelial nitric oxide synthase gene sequence variations and vascular disease. *Mol Genet Metab*. 70(4):241-51, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. OBESITY: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 894:i-xii,1-253, 2000.

YING, S. Y. & LIN, S. L. Intron-derived microRNAs—fine tuning of gene functions. *Gene*. 342, 25–28, 2004.

YING, S. Y. & LIN, S. L. Intronic microRNAs. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 326, 515–520, 2005.

YOKOYAMA, K.; TSUKADA, T.; NAKAYAMA, M.; HARA, S.; YAMADA, A.; KAWAGUCHI, Y.; HOSOYA., T. An intron 4 gene polymorphism in endothelial cell nitric oxide synthase might modulate volume-dependent hypertension in patients on hemodialysis. *Nephron*. Jul;85(3):232-7, 2000.

YOON, Y.; SONG, J.; HONG, S.H.; et al. Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease. *Clin Chem* 46:1626-30, 2000.

YOSHIMURA, M.; YASUE, H.; YOSHIMURA, M.; SHIMASAKI, Y.; KUGIYAMA, K.; OGAWA, H.; MOTOYAMA, T.; SAITO, Y.; OGAWA, Y.; MIYAMOTO, Y.; NAKAO, K. Genetic risk factors for coronary artery spasm; significance of endothelial nitric oxide synthase gene T-786->C and missense Glu298Asp variants. *J Invest Med.* 48:367-374, 2000.

ZANCHI, A.; MOCZULSKI, D.K.; HANNA, L.S.; WANTMAN, M.; WARRAM, J.H.; KROLEWSKI, A.S. Risk of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes is associated with endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Kidney Int* 57:405-413, 2000.

ZANESCO A, ANTUNES E. *Células Endoteliais*. In: Hernandez F. Carvalho; Carla B. Collares-Buzato. (Eds). *Células*. São Paulo: Manole; 2005.

ZANESCO, A.; ANTUNES, E. Effects of exercise training on the cardiovascular system: Pharmacological approaches. *Pharmacol Ther.* 114: 307-17, 2007.

ZANESCO, A.; ZAROS, P. Exercício Físico e Menopausa. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* p.17-24, 2009.

ZHANG, M. X.; OU, H.; SHEN, Y. H.; WANG, J.; WANG, J.; COSELLI, J.; WANG, X.L. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by small RNA. *PNAS.* 102, 47:16967–16972, 2005.

ZHANG, M.X.; ZHANG, C.; SHEN, Y.H.; WANG, J.; LI, X.N.; CHEN, L.; ZHANG Y.; COSELLI, J.S.; WANG, X.L.. Effect of 27nt Small RNA on Endothelial Nitric-Oxide Synthase Expression *Molecular Biology of the Cell.*19:3997–4005, 2008.

ZHU S, HESHKA S, WANG Z, SHEN W, ALLISON DB, ROSS R, HEYMSFI ELD SB. Combination of BMI and Waist Circumference for Identifying Cardiovascular Risk Factors in Whites. *Obes Res.* 12(4):633-45, 2004.

ANEXO 1. Parecer do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Rio Claro



DECISÃO CEP Nº 30/2008

Instituição: UNESP – IB – CRC	Departamento: Educação Física
Protocolo nº: 6603	Data: 24.10.08
Projeto de Pesquisa: "Correlação entre a presença de polimorfismo para o gene da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e hipertensão arterial em adultos"	

Pesquisa Individual	Pesquisador Responsável:
---------------------	--------------------------

Pesquisa Alunos de Graduação	Pesquisador Responsável: Angelina Zanesco
	Orientando(a): Pamella Araújo Malagrino

Pesquisa Alunos de Pós-Graduação	Pesquisador Responsável:
	Orientador(a):

Objetivo Acadêmico:	<input checked="" type="checkbox"/> TCC
	<input type="checkbox"/> Mestrado
	<input type="checkbox"/> Doutorado
	<input type="checkbox"/> Outros (especificar)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Rio Claro, em sua 32ª reunião ordinária, realizada em 02/12/2008,	
<input type="checkbox"/>	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
<input checked="" type="checkbox"/>	Referendou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
<input type="checkbox"/>	Aprovou retornar ao interessado para atendimento das pendências encontradas (prazo máximo de 60 dias):
<input type="checkbox"/>	Não Aprovou.
<input type="checkbox"/>	Retirou , devido à permanência das pendências.
<input type="checkbox"/>	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado e o encaminha , com o devido parecer, para apreciação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa- CONEP/MS , por se tratar de um dos casos previstos no capítulo VIII, item 4.c.

Rio Claro, 03 de dezembro de 2008.



Prof. Dra. Maria Izabel Souza Camargo
Coordenadora do CEP

Tabela de Atividades Físicas

Academia

1	Circuito
2	Exercício em clube
3	Alongamento/loja
4	Aeróbica
5	Hidroginástica
6	Musculação
7	Outros

Bicicleta

1	<16 Km/h
2	>16 Km/h (Quanto?)
3	Ergométrica

Dança

1	Ballet, Jazz
2	BodyJam
3	Salão
4	Ventre
5	Outras

Esportes

1	Futebol americano
2	Golf
3	Ginástica
4	Handball
5	Futebol
6	Ping-Pong
7	Tai-chi
8	Tênis em dupla
9	Tênis sozinho
10	Volei (jogo ã comp)
11	Volei
12	Basquete sem jogo
13	Basquete com jogo
14	Bilhar
15	Boliche
16	Boxe
17	Ensinar futebol, etc
18	Natação

Caminhada

1	Prazer
2	Marchando
3	Rápida
4	Com cachorro
5	Velocidade? _____
6	Para trabalho

Códigos utilizados para a análise dos questionários: Compedium of Physical Activities: na update of activity codes and MET intensities (AINSWORTH, 2000)

Academia		Bicicleta		Dança	
Código	METS	Código	METS	Código	METS
02040	8	01010	4	03010	4.8
02060	5.5	01030	8	03015	6.5
02100	2.5	02013	7	03016	8.5
02101	2.2			03021	7
02110	6.0	Natação		03040	3
02130	3	Código	METS		
18355	4.0	18240	7.0		
Pesca		Casa		Variados	
Código	METS	Código	METS	Código	METS
04001	3	05010	3.3	09020	2.3
		05020	3	09030	1.3
Jardinagem		05021	3.5	09040	1.8
Código	METS	05030	3	09060	1.8
08245	4	05041	2.3	09070	1.8
08110	6	05043	3.5	09080	2.0
08120	5.5	05052	2.5	09090	3.0
		05148	2.5		
Música		05170	2.5	Corrida	
Código	METS	05175	4	Código	METS
10010	1.8	05181	3	12020	7.0
10020	2.0	05185	2.5	12030	8.0
10050	2.0	05187	4	12050	10
10100	2.5	05190	2.5		
10120	2.0	05193	4		
10125	3.0	05195	3.5		
Esportes				Caminhada	
Código	Código	METS	METS	Código	METS
15040	17026	5.0	4.0	17026	5.0
15050	17027	6.0	4.0	17027	6.0
15080	17028	8.0	6.0	17028	8.0
15090	17230	6.3	8.0	17230	6.3
15110	17270	4.0	4.0	17270	4.0
15140	4.0	15720	3.0		
15230	8.0				
15255	4.5				
15300	4.0				
15320	12				
15330	8				
15370	4				
15430	10				
15610	7				