

ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO APAI DO GENE *IGF-2* COM A FORÇA E A MASSA MUSCULAR EM IDOSAS

ASSOCIATION BETWEEN THE IGF-2/APAI POLYMORPHISM WITH THE STRENGTH AND MUSCLE MASS IN ELDERLY WOMEN

Ricardo Jacó de Oliveira^{*}
Ricardo Moreno Lima^{*}
Michel Santos Silva^{**}
Maria Alcione Freitas e Silva^{**}
Lídia Maria Aguiar Bezerra^{***}
Andréa Carmem Guimarães^{****}
Rinaldo Wellerson Pereira^{**}

RESUMO

A sarcopenia diminui a capacidade funcional do idoso. O gene candidato Fator de Crescimento semelhante à Insulina-2 (*IGF-2*) tem influência na sarcopenia. Este estudo objetivou investigar a associação entre o polimorfismo *Apai* do gene *IGF-2* e os fenótipos força e massa muscular. Participaram deste estudo 252 voluntárias (66,94 ± 5,59 anos), as quais tiveram a força muscular mensurada em aparelho isocinético, a composição corporal analisada pelo DEXA e o nível de atividade física determinado pelo IPAQ. O DNA foi extraído e genotipado para o polimorfismo *Apai* do gene *IGF-2*. Foi utilizada uma Anova e uma Ancova para comparar as variáveis ($p > 0,05$). Não houve diferença significativa entre as variáveis: idade, massa corporal, estatura, IMC e o percentual de gordura nos três grupos genotípicos. A análise de covariância demonstrou que não ocorreram diferenças significativas entre os grupos com os fenótipos analisados. Portanto, não houve associações significativas entre o polimorfismo *Apai* do *IGF-2* com a força muscular isocinética e a massa livre de gordura.

Palavras-chave: Receptor IGF Tipo 2. Força Muscular. Idoso.

INTRODUÇÃO

Entre os fatores que contribuem para os idosos tornarem-se fisicamente debilitados encontram-se a sarcopenia, que consiste na diminuição da massa e da função muscular (ROSEMBERG, 1989; ROUBENOFF et al., 1997; FIATARONE et al., 1990). A redução da massa muscular e a diminuição da força comprometem o desempenho neuromotor, podendo este comprometimento avançar até que o idoso não consiga realizar as atividades da vida diária. Por isso, é importante manter a força muscular ao longo do envelhecimento, visto que é vital para a saúde, para a capacidade funcional e para a vida independente (FLECK;

KRAEMER, 1999; RABELO; OLIVEIRA; BOTTARO, 2004).

Alguns estudos têm encontrado contribuições genéticas com relação à força (REED et al., 1991) e a massa muscular (ABNEY; MCPEEK; OBER, 2001). No entanto, algumas pesquisas encontram significativas relações entre a massa muscular do crescimento pré-natal com indivíduos adultos (GALE et al., 2001) e com a força de preensão palmar (KUH et al., 2002). Tem sido demonstrado que pela influência genética, alguns indivíduos estão mais propensos a apresentar menores níveis de força e de massa muscular como efeito do envelhecimento. Por outro lado, a identificação de genes específicos e polimorfismos requer

* Doutor. Professor da Universidade de Brasília, Brasília-DF, Brasil.

* Doutor. Professor da Universidade de Brasília, Brasília-DF, Brasil.

** Mestre. Universidade Católica de Brasília, Brasília-DF, Brasil.

** Mestre. Universidade Católica de Brasília, Brasília-DF, Brasil.

*** Doutora. Professora da Universidade de Brasília, Brasília-DF, Brasil.

**** Doutora. Professora da Universidade Federal de São João Del-Rei, São João Del-Rei - MG, Brasil.

futuros estudos nesses genes com fenótipos musculares. Algumas variações alélicas são examinadas em investigações prévias, mas a temática é ainda controversa e não foi concluída uma informação consensual. Não está claro qual a influência que os polimorfismos dos genes, tais como o receptor de vitamina D (VDR), o fator neurotrófico ciliar (CNTF), a enzima conversora de angiotensina (ACE), fator de diferenciação do crescimento tipo 8/miostatina (GDF-8) e o fator de crescimento semelhante à insulina - tipo 2 (IGF-2) exercem sobre a força e a massa muscular de idosos.

Estudos disponíveis na literatura sugerem que entre os genes candidatos, o IGF-2 exerce influência sobre a força, massa muscular, composição corporal, e sobre a força de preensão do adulto (O'DELL et al., 1997; SAYER et al., 2002). No entanto, há poucos estudos que demonstram que a perda de massa muscular e de força sofre influência genética. Nesse sentido, este estudo tem o propósito de verificar a associação do polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 com os fenótipos força e massa muscular em idosas.

MÉTODOS

Amostra

Para a realização deste estudo foram selecionadas 252 idosas pós-menopausadas ($66,94 \pm 5,59$ anos) residentes no Distrito Federal e entorno. Para o recrutamento das voluntárias foi realizada a técnica de amostragem por conveniência e as mesmas foram convidadas a participar de uma palestra sobre o panorama da pesquisa por meio de ligações telefônicas e panfletagem. Para fazer parte da amostra deste estudo foram adotados os seguintes critérios de inclusão: ter 60 anos de idade ou mais; estar na pós-menopausa; nacionalidade brasileira; ser capaz de caminhar sem assistência de outra pessoa; não apresentar problemas significativos de saúde que pudessem influenciar no resultado da pesquisa; não utilizar algum tipo de pino e placas metálicas, marcapasso ou prótese unilateral ou bilateral de quadril; ter pressão arterial controlada; não apresentassem histórico de doenças cardiovasculares sem o controle por

medicamentos ou doenças osteomioarticulares de qualquer segmento dos membros inferiores que impedissem a realização dos testes; que apresentassem massa corporal e estatura compatível com os limites superiores para realizar as medidas na balança e/ou DEXA; e tivessem assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Católica de Brasília – UCB sob o número CEP/UCB 014/2007.

PROCEDIMENTOS

Coleta de Dados

Todas as participantes responderam um questionário de caracterização da amostra informando sobre o histórico médico, tratamento de reposição hormonal, tabagismo, cor de pele referida, cidade de nascimento, possíveis doenças e medicamentos em uso.

Caracterização dos Níveis de Atividade Física

Foi utilizada a versão longa do Questionário Internacional de Atividade Física - IPAQ (*International Physical Activity Questionnaire*), para determinar os níveis habituais de atividade física das voluntárias (CRAIG et al., 2003). O modelo usado neste estudo corresponde à tradução oficial em português da versão longa (MATSUDO et al., 2001). A avaliação considerou a duração e frequência das atividades físicas realizadas em uma semana, com sessões superiores a 10 min contínuos. A aplicação do questionário foi realizada por meio de entrevista e os seus resultados possibilitaram a divisão em cinco categorias: sedentário (não realizou nenhuma atividade física por pelo menos 10 min contínuos durante a semana); irregularmente ativo B e irregularmente ativo A (realizou atividade física por pelo menos 10 min por semana, porém insuficiente para ser classificado como ativo). No primeiro grupo, não atingiu nenhum dos critérios da recomendação; já no segundo, atingiu pelo menos um dos critérios da recomendação, sendo eles: 1. Frequência: 5 dias/semana ou 2. Duração: 150 min / semana; ativo (Cumpriu as recomendações: 1. VIGOROSA: ≥ 3 dias/sem e ≥ 20 minutos por

sessão, 2. MODERADA OU CAMINHADA: ≥ 5 dias/sem e ≥ 30 min por sessão e 3. qualquer atividade somada: ≥ 5 dias/sem e ≥ 150 min/sem); e muito ativo (Cumpriu as recomendações: 1. VIGOROSA: 5 dias/sem e 30 min por sessão ou 2. VIGOROSA: ≥ 3 dias/sem e ≥ 20 min por sessão + MODERADA e/ou CAMINHADA: ≥ 5 dias/sem e ≥ 30 min por sessão).

ANTROPOMETRIA

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

Avaliação da Composição Corporal

A massa muscular e a gordura corporal foram obtidas por meio do exame de corpo inteiro utilizando o equipamento da marca Lunar, modelo DPX-IQ (Lunar Corporation, Madison, WI, USA) por meio da absorptometria por raios-x de dupla energia (DEXA) no Laboratório de Imagem na Unidade de Densitometria Óssea da UCB.

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

kg/m². Trata-se de uma fórmula análoga ao IMC, que elimina diferenças na MLGA decorrentes de diferenças de estatura.

Avaliação da Força Muscular

A avaliação do Pico de Torque (Newtons/metros-Nm) foi realizada pelo maior valor de torque em cada série do teste no dinamômetro isocinético Biodex System III® (Biodex Medical, Inc., Shirley, NY). Primeiramente, foi mensurada a Pressão Arterial (PA) das idosas antes do início dos testes. As idosas que apresentaram alterações na PA, ou seja, quando a pressão arterial sistólica (PAS) apresentou valor acima de 140 mmHg (milímetros de mercúrio) e a pressão arterial diastólica (PAD) acima de 90 mmHg, foram remarcadas para realizar o teste em outro momento..

As voluntárias realizaram aquecimento em bicicleta ergométrica Lode® modelo Excalibur em uma potência de aproximadamente 15-30 w durante 5 min. O Dinamômetro foi calibrado conforme especificações do fabricante e todos os testes foram realizados pelo mesmo avaliador. Após o aquecimento, as idosas foram posicionadas na cadeira ajustável do dinamômetro isocinético, e foi verificado qual era a perna dominante da voluntária, a qual foi escolhida para realizar o teste. A cadeira foi ajustada para que a fossa poplíteia do joelho estivesse apoiada na parte inferior do assento da cadeira, e para que o epicôndilo lateral do fêmur estivesse alinhado com o eixo mecânico de rotação do dinamômetro. Em seguida, foram colocados os cintos de estabilização da região torácica, pélvica e femoral da perna dominante para minimizar qualquer movimento que pudesse interferir no resultado do teste. Também foi observada a estabilização da coxa em sua porção distal com o objetivo de minimizar o movimento femoral. O braço da alavanca foi ajustado e fixado imediatamente acima do maléolo medial da perna dominante. Uma vez que a idosa estava corretamente posicionada, foi ajustado a 0° a posição em que o epicôndilo lateral do fêmur estava alinhado com o eixo mecânico do dinamômetro e a perna fazendo 90° com o assento da cadeira. Após esses procedimentos, foram estabelecidos os ângulos que determinavam a amplitude do movimento da

voluntária. Em seguida, a perna foi colocada a 40° para medir o peso do membro avaliado a fim de corrigir a ação da gravidade. A voluntária foi orientada a segurar com os braços cruzados no cinto de estabilização da região torácica, uma vez que não foi adotada a pegada na mesa pelo fato de algumas idosas não conseguirem segurar firmemente nesta posição.

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

ANÁLISE DO DNA

A coleta sanguínea foi realizada por uma enfermeira devidamente treinada e o volume de sangue extraído, de 3 a 5 mL, foi colhido em tubos vacutainer estéreis contendo anticoagulante EDTA. Posteriormente, o DNA genômico de alto peso molecular foi extraído dos leucócitos periféricos utilizando-se o método "Salting Out" do protocolo modificado de Miller, Dykes e Polesky (1988). A concentração do DNA extraído foi estimada por meio de gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio. Em cada poço do gel, foi

aplicado um volume de 8 µl, sendo 4 µl de solução tampão de carregamento (azul de bromofenol) e 4 µl do DNA extraído e conservado em TE. Foi utilizado como padrão para quantificação o lambda DNA em concentrações de 20, 50, 100 e 200ng/µl. Após, aproximadamente, 15 min de eletroforese a 80V, o gel foi fotografado em luz ultravioleta (Figura 1). A quantificação do DNA foi realizada por meio da comparação entre a intensidade das bandas visualizadas nas amostras extraídas, com as observada nos padrões de lambda DNA.

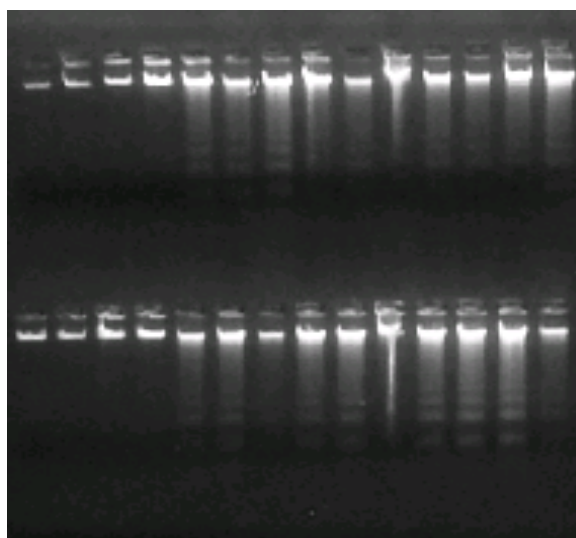


Figura 1 - Quantificação do DNA.

Polimorfismo Estudado no Gene IGF-2

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

Foi utilizada a letra 'G' para identificar o alelo com a presença de guanina, e 'A' para identificar o alelo com a presença de Adenina (A). Após a identificação do alelo presente, cada uma das amostras foi classificada em um dos três possíveis grupos: AA, GA e GG.

AMPLIFICAÇÃO DO DNA

O método amplificação do DNA foi feito pela Reação em Cadeia da Polimerase - PCR (Polimerase Chain Reaction) em um

termociclador da marca GeneAmp® PCR System 9700, (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

Esta técnica faz com que um fragmento específico de fita simples da molécula de DNA, seja amplificado milhares de vezes em poucas horas. Ela é baseada na termoestabilidade da enzima Taq Polimerase, extraída da bactéria *Thermus aquaticus*, com capacidade de exercer sua função em temperaturas elevadas que promovem normalmente a desnaturação do DNA. O MgCl₂ favorece o estímulo na Taq polimerase e o dNTP são monômeros para a biossíntese do DNA. A reação da PCR foi realizada em um volume final de 12,5 µl, sendo: MgCl₂ 2,5µM (0,25µl), dNTP 250µM (1,25µl), Tampão 1x (1,25µl), BSA 0,32µM (1,6µl), Primer F - 5'-GTCCCTGAACCAGCAAAGAG-3' 0,5µM (0,625µl) Primer R - 5'-TGATGGAAAAGGGAGTGAGG-3' 0,5µM (0,625µl), enzima Taq DNA Polimerase 0,5U (0,1µl), água milli-Q (3,8µl) 5ng de DNA (3µl). Os primers utilizados nesta reação foram desenhados pelos autores deste projeto. Os fragmentos amplificados possuíam 156 pares de bases (bp).

Genotipagem do IGF-2

A genotipagem do polimorfismo foi realizada com a enzima de restrição *ApaI* utilizando a PCR-RFLP (Polimorfismos de tamanho em fragmentos de restrição). Para a realização deste procedimento foram utilizados 7µl a 9µl de produto PCR, 1,5 buffer, 0,75 de enzima de restrição *ApaI*, e 5,75 a 3,75 de água destilada. Esta reação era incubada em *overnight* a 37°C e, em seguida, foram adicionados 4 µl de DNA digerido pela enzima de restrição a 3µl de tampão de carregamento em gel de agarose (4%) corado com brometo de etídeo para que fosse visualizado na luz ultravioleta (Figura 2).

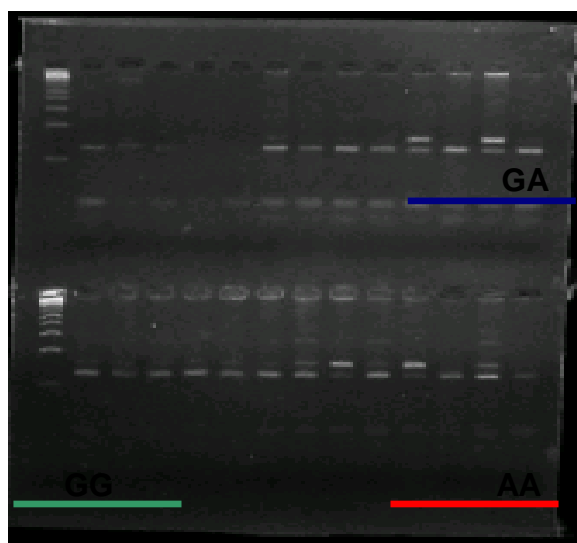


Figura 2 - Fragmentos do polimorfismo do gene IGF-2 com a enzima de restrição *ApaI* separados por eletroforese em gel de agarose (4%).

Tratamento Estatístico

O teste *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para verificar se os dados seguiam uma distribuição normal. Posteriormente, a amostra foi caracterizada utilizando-se da estatística descritiva para determinar a média e desvio-padrão. O teste Qui-Quadrado foi utilizado para verificar se a frequência genotípica das idosas encontrava-se de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. A Análise de Variância *One Way* multifatorial (ANOVA) foi utilizada para comparar se houve diferença entre os genótipos do gene IGF-2 e as variáveis dependentes: idade, massa corporal, estatura, IMC e percentual de gordura. Nesta análise foram utilizados como fator fixo os genótipos e como dependentes as variáveis analisadas.

Em seguida, foi realizada a Análise de Covariância (Ancova) para verificar as diferenças entre os fenótipos dos grupos (GG, GA, AA) ajustados pelas seguintes variáveis PT (N/m): idade, massa corporal, estatura, percentual de gordura e IMC; MLGA (kg): massa corporal, estatura, percentual de gordura, IMC, cor de pele referida; MLGAR (kg/m²): percentual de gordura e IMC; MLGT (kg): massa corporal, estatura, percentual de gordura, IMC e cor de pele referida; MLGTR (kg/m²): idade, massa corporal, estatura, percentual de gordura e IMC. Essas covariáveis foram identificadas por meio de uma regressão múltipla *stepwise*. A significância estatística

adotada foi $p < 0,05$. O teste de *Bonferroni* foi adotado para corrigir as comparações múltiplas. Todas as análises foram realizadas com a utilização do programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), versão 15.0. O poder dos testes estatísticos utilizados foi de 80%.

RESULTADOS

As médias e desvios-padrão das características da amostra estão descritas na Tabela 1.

Na Tabela 2 são demonstrados os valores absolutos e relativos das características referentes ao tabagismo, à obesidade, à cor de pele autodefinida, ao nível de atividade física e à autodefinição da perna dominante. A classificação da obesidade foi baseada nos valores de IMC superior a 30 kg/m² (GEUSENS et al., 1997).

Tabela 1- Médias e desvios-padrão das características da amostra.

Variáveis	Média ± DP	Mínimo	Máximo
n	252	-	-
Idade (anos)	66,94 ± 5,59	57	87
Massa Corporal (kg)	66,39 ± 13,24	34,3	159,9
Estatura (m)	1,53 ± 0,07	1,33	1,71
IMC (kg/m²)	28,23 ± 4,85	17,25	54,68
Percentual de gordura (%)	39,50 ± 5,94	20,5	54,1
MLGA (kg)	14,56 ± 2,00	9,19	19,95
MLGAR (kg/m²)	6,09 ± 0,59	4,73	7,51
MLGT (kg)	37,61 ± 4,11	28,17	47,23
MLGTR (kg/m²)	15,98 ± 1,36	12,23	19,62
PT (N/m)	94,98 ± 22,40	42,9	153,97

n= Número de voluntárias da amostra; DP= Desvio-padrão; IMC= Índice de Massa Corporal; MLGA= Massa livre de gordura apendicular; MLGAR= Massa livre de gordura apendicular relativa; MLGT= Massa livre de gordura total; MLGTR= Massa livre de gordura total relativa; PT= Pico de torque normalizado.

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

Características	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
n	252	100
Fumante		
Sim	16	6,35
Não	236	93,65
Obesidade		
Sim (IMC > 30 kg/m²)	80	31,75
Não (IMC ≤ 30 kg/m²)	172	68,25
Cor da Pele		
Branca	131	51,98
Amarela	11	4,37
Parda	54	21,43
Negra	51	20,24
Vermelha	5	1,98
Nível de Atividade Física (IPAQ)		
Muito Ativas	6	2,38
Ativas	188	74,6
Irregularmente ativas A	36	14,29
Irregularmente ativas B	17	6,75
Sedentárias	5	1,98
Perna Dominante		
D	245	97,22
E	7	2,78

n= Número de voluntárias da amostra; IMC= Índice de Massa Corporal; IPAQ= International Physical. Activity Questionnaire; D= Perna direita; E= Perna esquerda.

Na Tabela 3 é mostrada a distribuição genotípica do SNP rs680 analisado na amostra deste estudo.

Tabela 3- Frequência genotípica do SNP rs680 analisado no gene IGF-2.

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

As voluntárias analisadas foram sequenciadas com relação aos genótipos do polimorfismo *ApaI* do gene *IGF-2*. Observou-se que na distribuição genotípica 88 idosas (34,92%) apresentaram o genótipo GG, 124 idosas (49,21%) o genótipo GA e 40 idosas (15,87%) apresentaram o genótipo AA. A frequência do alelo A foi de 40,47% e do alelo G foi de 59,53%. O teste Qui-Quadrado revelou que a distribuição destes genótipos

estava de acordo com o equilíbrio de *Hardy-Weinberg*.

Na Tabela 4 são mostradas as características das participantes deste estudo considerando o genótipo analisado. A Anova *One-Way* mostrou que não houve diferença significativa entre as variáveis: idade, massa corporal, estatura, IMC e percentual de gordura. Foi realizada a Análise de Covariância (Ancova) para verificar se as médias dos fenótipos massa livre de gordura e pico de torque, após controlar as covariáveis, diferenciavam entre os genótipos do SNP rs680. No entanto, os resultados revelaram que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos genotípicos (GG, GA, AA) com os fenótipos analisados. Na Tabela 5 são apresentadas as médias dos fenótipos massa livre de gordura e pico de torque antes e depois do controle das covariáveis.

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

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

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

Fenótipos	Genótipos			P
	GG	GA	AA	
n	88	124	40	
PT (N/m)				
Ajustada	93,71 ± 2,02	96,35 ± 1,70	93,53 ± 3,00	0,53
Não ajustada	92,33 ± 23,70	97,19 ± 21,43	93,97 ± 22,27	0,59
MLGA (kg)				
Ajustada	14,78 ± 0,16	14,49 ± 0,13	14,12 ± 0,23	0,2
Não ajustada	14,64 ± 2,08	14,58 ± 1,97	14,16 ± 1,99	0,26
MLGAR (kg/m²)				
Ajustada	6,11 ± 0,06	6,11 ± 0,05	6,02 ± 0,08	0,58
Não ajustada	6,11 ± 0,62	6,11 ± 0,57	6,03 ± 0,56	0,57
MLGT (kg)				
Ajustada	37,59 ± 0,27	37,72 ± 0,23	37,29 ± 0,41	0,66
Não ajustada	37,28 ± 4,25	37,93 ± 4,03	37,30 ± 4,05	0,36
MLGTR (kg/m²)				
Ajustada	16,02 ± 0,11	16,00 ± 0,09	15,81 ± 0,17	0,54
Não ajustada	16,01 ± 1,42	16,02 ± 1,34	15,77 ± 1,33	0,44

n= Número de voluntárias da amostra; PT= Pico de torque; MLGA= Massa livre de gordura apendicular; MLGAR= Massa livre de gordura apendicular relativa; MLGT= Massa livre de gordura total; MLGTR= Massa livre de gordura total relativa.

DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi verificar a associação do polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 com os fenótipos força e massa muscular em idosas.

Após a sistematização dos dados foi observado que 31,75% das voluntárias participantes do estudo foram consideradas obesas, pois apresentaram valores de IMC superiores a 30,0 kg/m². Quando analisado o %G, estudado em diferentes países (GALLAGHER et al., 1997; BAUMGARTNER et al., 1998; NEWMAN et al., 2003; KYLE et al., 2001; LAU et al., 2005), este estudo assemelhou-se aos resultados encontrados nos países analisados. Sabe-se que, com o envelhecimento, as pessoas tendem a adquirir maior massa gorda (BASU, R.; BASU, A.; NAIR, 2002), o que pode ocasionar grandes riscos para a saúde como, por exemplo, o aumento da pressão arterial. Para minimizar as alterações decorrentes do envelhecimento, sugere-se adotar um estilo de vida com hábitos alimentares saudáveis e prática de atividade

física. De acordo com o IPAQ, 76,98% da amostra deste estudo foram classificadas como “Muito Ativas” e “Ativas”, mas não foram avaliados os hábitos alimentares das idosas.

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

A MLGT deste estudo foi semelhante ao estudo de Gallagher et al. (2000), superior ao resultado das idosas brancas do estudo de Newman et al. (2003), e das idosas dos estudos realizados por Hansen et al. (1999) e Lau et al. (2005). Foi ainda inferior a MLGT das idosas dos estudos de Baumgartner et al. (1998), Hansen et al. (1999), e Newman et al. (2003). No entanto, pela grande variedade de fatores que podem explicar as diferenças encontradas entre os resultados da amostra estudada e os resultados dos demais estudos, torna-se difícil

estabelecer quais fatores como, por exemplo, as diferenças étnicas, diferentes hábitos nutricionais e ambientais (LIMA, 2006), os níveis de atividades físicas, reposição e fatores hormonais (SZULC et al., 2004) e o tabagismo, melhor explicariam as diferenças dos fenótipos musculares.

Com o aumento da população idosa, as alterações fisiológicas associadas à idade têm sido motivo de preocupação entre os pesquisadores. Dentre as alterações destaca-se a sarcopenia, que é caracterizada pela perda involuntária de massa muscular esquelética e força (BROSS; JAVANBAKHT; BHASIN, 1999; SKELTON; BEYER, 2003). De acordo com os resultados obtidos na avaliação da composição corporal das voluntárias, observou-se que os valores do IMC, percentual de gordura e da MLG foram similares aos estudos publicados, porém há a necessidade de se definir um valor específico para o ponto de corte da sarcopenia nesta população miscigenada, pois, a perda de massa e força muscular pode levar à dependência de outras pessoas para realizarem as Atividades da Vida Diária (AVDs), ou até mesmo a mortalidade.

A análise estatística do estudo (Ancova) demonstrou que os resultados obtidos na força isocinética, após o controle das covariáveis, não diferenciavam estatisticamente entre os genótipos do SNP rs680. Os valores da força muscular obtidos neste estudo foram semelhantes ao de Carvalho et al. (2004) no pós-teste com relação às mulheres (60°/s) e aos homens (180°/s). Foi superior aos resultados encontrados nos estudos de Aquino et al. (2002), no momento pré-teste (60°/s e 180°/s) e pós-teste (180°/s) das mulheres, e no pré-teste (180°/s) dos homens na pesquisa realizada por Carvalho et al. (2004). Foi ainda superior aos resultados encontrados por Aquino et al. (2006). Vale ressaltar que, possivelmente, a discordância de resultados encontrados neste estudo em relação aos outros citados anteriormente, deve-se aos procedimentos utilizados, ao número de repetição em cada série, ao número de séries em cada teste, a velocidade angular adotada, intervalo entre cada série e a amostra utilizada (nível de atividade física e hábitos alimentares, entre outros).

Nas velocidades angulares mais baixas existe maior produção de força muscular (maior pico de torque), pois as fibras musculares do tipo II

(glicolíticas) são recrutadas em maior número quando comparada às fibras do tipo I (THORSTENSSON; GRIMBY; KARLSSON, 1976).

Neste estudo não foi observada interação entre o polimorfismo *apaI* e os níveis de atividade física na determinação do pico de torque e da massa livre de gordura. No Quadro 2 é indicada a distribuição genotípica apresentada em estudo prévio com relação ao polimorfismo *apaI* do gene IGF-2.

A distribuição da frequência genotípica teve comportamento semelhante aos estudos prévios (SAYER et al., 2002; SCHRAGER et al., 2004; GOMES et al., 2005), porém, diferindo dos outros grupos (GG e AA), a maior distribuição da frequência alélica do polimorfismo *apaI* do gene IGF-2 foi encontrado com genótipos GA.

A análise estatística Ancova indicou que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos resultados obtidos na associação entre os fenótipos pico de torque e massa livre de gordura com os genótipos do polimorfismo *apaI* do gene IGF-2, corroborando com a pesquisa de Devaney et al. (2007), que também não encontraram associações significativas da força com os genótipos do IGF-2. No entanto, estudos têm demonstrado associações significantes entre os genótipos do IGF-2 com a massa corporal, a massa livre de gordura e a força em homens e mulheres como o de Schragger et al. (2004). Este estudo avaliou em dois períodos (1960 – 1985; 1992 – 2002) um total de 485 indivíduos (246 homens e 239 mulheres), com idade entre 20 e 94 anos, voltado à influência do gene IGF-2 na massa muscular livre de gordura total e na força muscular. Considerando apenas a amostra das 239 mulheres analisadas, vale ressaltar que a MLGT só foi mensurada em 19, 84 e 103 mulheres AA, GA e GG, respectivamente.

No Quadro 1 é apresentada a comparação dos resultados encontrados por Schragger et al. (2004), comparando com os resultados do presente estudo com relação à MLGT e à força isocinética. O referido estudo indicou que a força isocinética de braço nos homens AA era menor do que nos homens GG. Já as mulheres AA apresentaram menor quantidade de massa livre de gordura e de força quando comparadas às mulheres GG.

Quadro 1- Comparações dos resultados encontrados no presente estudo e o de Schragger et al. (2004).

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

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

Considerando este estudo como sendo o pioneiro em relação à associação do polimorfismo *Apal* do IGF-2 em mulheres idosas com os fenótipos força e MLG, e diante dos achados publicados na literatura, sugere-se realizar estudos de intervenção utilizando o polimorfismo *Apal* do gene IGF-2 com os fenótipos força e massa muscular em mulheres idosas brasileiras e também nas demais populações para verificar se há ou não influência desse gene sobre a força e a massa muscular, bem como realizar pesquisas de associação para a confirmação dos achados observados neste estudo. De acordo com Sullivan (2007), as pesquisas de associações genéticas são importantes para a formação de banco de dados, porém devem ser analisados com cautela para evitar a possibilidade de encontrar associações espúrias.

Brand, Brand e Bäumen (2008) relatam que os estudos de associações tornam-se relevantes, pois juntamente com os avanços da genética têm resultado em grandes mudanças na intervenção e prevenção de processos degenerativos e de muitas doenças.

CONCLUSÃO

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

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

ASSOCIATION BETWEEN THE IGF-2/APAI POLYMORPHISM WITH THE STRENGTH AND MUSCLE MASS IN ELDERLY WOMEN
ABSTRACT

Sarcopenia reduces functional capacity in elderly people. The candidate gene Insulin Growth Factor (IGF-2) has been suggested to influence on sarcopenia. This study aimed to investigate the association between the IGF-2 / ApaI polymorphism and the phenotypes muscle mass and strength. The study involved 252 subjects (66.94 ± 5.59 years), who underwent muscle strength measurements using an isokinetic dynamometer, and fat-free mass (FFM) assessment using DEXA. Volunteers also answered the IPAQ questionnaire to determine physical activity levels. Statistical procedures included ANOVA and ANCOVA to compare variables ($p < 0.05$). No significant difference was detected between age, weight, height, BMI and body fat percentage in the three genotype groups. The analysis of covariance evidenced no significant difference between groups regarding the evaluated muscle-related phenotypes. Therefore, there was no significant association between IGF-2 / ApaI polymorphism with isokinetic muscle strength and FFM in this population.

Keywords: IGF-2. Strength. Elderly.

REFERÊNCIAS

- ABNEY, M.; MCPEEK, M. S.; OBER, C. Broad and narrow heritabilities of quantitative traits in a founder population. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 68, no. 5, p. 1302-1307, 2001.
- AQUINO, M. A. et al. Isokinetic assessment of knee flexor/extensor muscular strength in elderly women. **Revista do Hospital das Clínicas**, São Paulo, v. 57, no. 4, p. 131-134, 2002.
- BASU, R.; BASU, A.; NAIR, K. S. Muscle changes in aging. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, Paris, v. 6, no. 5, p. 1-6, 2002.
- BAUMGARTNER, R. N. et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 147, no. 8, p. 755-763, 1998.
- BOTTARO, M.; RUSSO, A.; OLIVEIRA, R. J. The effects of rest interval on quadriceps torque during an isokinetic testing protocol in elderly. **Journal of Sports Science and Medicine**, Bursa, v. 4, p. 285-290, 2005.
- BRAND, A.; BRAND, H.; BÄUMEN, T. S. The impact of genetics and genomics on public health. **European Journal of Human Genetic**, v. 16, p. 5-13, 2008.
- BROSS, R.; JAVANBAKHT, M.; BHASIN, S. Anabolic interventions for aging-associated sarcopenia. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Connecticut, v. 84, p. 3420-3430, 1999.
- BROWN, L. E., WEIR, J. P. ASEP Procedures recommendation I: accurate assessment of muscular strength and power. **Journal of Exercise Physiology**, Bethesda, v. 4, no. 3, p. 1-21, 2001.
- CARVALHO, J. et al. Força muscular em idosos II — Efeito de um programa complementar de treino na força muscular de idosos de ambos os sexos. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, Porto, v. 4, no. 1, p. 58-65, 2004.
- CRAIG, C. L. et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v. 35, no. 8, p. 1381-1395, 2003.
- DEVANEY, J. M. et al. IGF-II gene region polymorphisms related to exertional muscle damage. **Journal of Applied Physiology**, Washington, DC, v. 102, p. 1815-1823, 2007.
- FIATARONE, M. A. et al. High-intensity strength training in nonagenarians – effects on skeletal muscle. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 263, p. 3029-3034, 1990.
- FLECK, S. J.; KRAEMER, W. J. **Fundamentos do treinamento de força muscular**. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1999.
- GALE, C. R. et al. Intrauterine programming of adult body composition. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Connecticut, v. 86, no. 1, p. 267-272, 2001.
- GALLAGHER, D. et al. Weight stability masks sarcopenia in elderly men and women. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, Connecticut, v. 279, p. E366-E375, 2000.
- GALLAGHER, D. et al. Appendicular skeletal muscle mass: effects of age, gender, and ethnicity. **Journal of applied physiology**, Washington, DC, v. 83, no. 1, p. 229-239, 1997.
- GEUSENS, P.; et al. Quadriceps and grip strength are related to vitamin D receptor genotype in elderly nonobese women. **Journal of Bone Mineral Research**, New York, v. 12, p. 2082-2088, 1997.
- GOMES, M. V. M. et al. Association between birth weight, body mass index and IGF2/ApaI polymorphism. **Growth Hormone e IGF Research**, [S.l.], v. 15, p. 360–362, 2005.
- HANSEN, R. D. et al. Determination of skeletal muscle and fat-free mass by nuclear and dual-energy X-ray absorptiometry methods in men and women aged 51-84 y. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 70, p. 228-233, 1999.
- KAHN, H. S. et al. Relation of birth weight to lean and fat thigh tissue in young men. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorder**, London, v.24, no. 6, p. 667-672, 2000.
- KENNY, A. M. et al. Prevalence of sarcopenia and predictors of skeletal muscle mass in nonobese women who are long-term users of estrogen-replacement therapy. **Journal of Gerontology**, Washington, DC, v. 58A, no. 5, p. 436-440, 2003.
-

- KUH, D. et al. Birth weight, childhood size, and muscle strength in adult life: evidence from a birth cohort study. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 156, no. 7, p. 627-633, 2002.
- KYLE, U. G. et al. Total body mass, fat mass, fat-free mass, and skeletal muscle in older people: cross-sectional differences in 60-year-old persons. **Journal of the American Geriatrics Society**, New York, v. 49, p. 1633-1640, 2001.
- LAU, E. M. et al. Prevalence of and risk factors for sarcopenia in elderly Chinese men and women. **Journal of Gerontology: Biological Sciences and Medical Sciences**, Washington, DC, v. 60, p. 213-216, 2005.
- LIMA, L. M. C. **Correlação de elementos traço, densidade mineral óssea, massa livre de gordura e massa gorda em idosos**. 2006. 64 f. Dissertação (Mestrado em Educação Física)-Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF, 2006.
- LIMA, R. M. et al. Lack of association between vitamin D receptor genotypes and haplotypes with fat free mass in postmenopausal Brazilian women. **The Journal of Gerontology: Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, Washington, DC, v. 62A, p. 966-972, 2007.
- LINDLE, R. S. et al. Age and gender comparisons of muscle strength in 654 women and men aged 20-93yr. **Journal of Applied Physiology**, Washington, DC, v. 83, p. 1581-1587, 1997.
- MATSUDO, S. et al. Questionário internacional de atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, Londrina, v. 6, n. 2, p. 5-18, 2001.
- MELTON, L. J. et al. Epidemiology of sarcopenia. **Journal of the American Geriatrics Society**, New York, v. 48, p. 625-630, 2000.
- MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, London, v. 16, p. 1215, 1988.
- NEWMAN, A. B. et al. Sarcopenia: alternative definitions and associations with lower extremity function. **Journal of the American Geriatrics Society**, New York, v. 51, p. 1602-1609, 2003.
- O'DELL, S. D. et al. Apolipoprotein polymorphism in insulin-like growth factor II (IGF-2) gene and weight in middle-aged males. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, London, v. 21, n. 9, p. 822-825, 1997.
- RABELO, H. Y.; OLIVEIRA, R. J.; BOTTARO, M. Effects of resistance training on activities of daily living in older women. **Biology of Sport**, Geneva, v. 21, n. 4, p. 325-336, 2004.
- REED, T. et al. Genetic influences and grip strength norms in the NHLBI twin study males aged 59-69. **Annals of Human Biology**, London, v. 18, no. 5, p. 425-432, 1991.
- ROSENBERG, I. H. Epidemiologic and methodologic problems in determining nutritional status of older persons. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 50, p. 1231-1233, 1989.
- ROTH, S. M. et al. Vitamin D receptor genotype is associated with fat-free mass and sarcopenia in elderly men. **Journal of Gerontology: Biological Sciences and Medical Sciences**, Washington, DC, v. 59A, no. 1, p. 10-15, 2004.
- ROUBENOFF, R. et al. Standardization of nomenclature of body composition in weight loss. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 66, p. 192-196, 1997.
- SAYER, A. A. et al. Polymorphism of the IGF-2 gene, birth weight and grip strength in adult men. **British Geriatrics Society**, London, v. 31, p. 468-470, 2002.
- SCHRAGER, M. A. et al. Insulin-like growth factor-2 (IGF-2) genotype, fat-free mass, and muscle performance across the adult life span. **Journal of Applied Physiology**, Washington, DC, v. 97, p. 2176-2183, 2004.
- SKELTON, D. A.; BEYER, N. Exercise and injury prevention in older people. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v. 13, p. 77-85, 2003.
- SULLIVAN, P. F. **Spurious genetic associations**. **Biological Psychiatry**, New York, v. 61, p. 1121-1126, 2007.
- SZULK, P. et al. Hormonal and lifestyle determinants of appendicular skeletal muscle mass in men: the MINOS study. **American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v. 80, p. 496-503, 2004.
- TERRERI, A. S. A. P.; GREVE, D. M. J.; AMATUZZI, M. M. Avaliação isocinética no joelho do atleta. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 62-66, 2001.
- THORSTENSSON, A.; GRIMBY, G.; KARLSSON, J. Force-velocity relations and fiber composition in human knee extensor muscles. **Journal of Applied Physiology**, Washington, DC, v. 40, p. 12-16, 1976.

Recebido em 11/10/2011

Revisado em 03/10/2012

Aceito em 11/11/2012

Endereço para correspondência: Ricardo Jacó de Oliveira. Faculdade de Educação Física, *Campus* Universitário Darcy Ribeiro, CEP 70910-900. Brasília-D.F. E-mai: rjaco@unb.br