

PUCRS

ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

CRISTIANE ALVES BORGES

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE DEPENDENTE
DE MANGANÊS (MnSOD) COM MARCADORES REDOX, INFLAMATÓRIOS, ATIVIDADE
FÍSICA E CONSUMO ALIMENTAR DOS IDOSOS DO EMISUS**

Porto Alegre
2020

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

CRISTIANE ALVES BORGES

Dissertação de Mestrado

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE
DEPENDENTE DE MANGANÊS (MnSOD) COM MARCADORES REDOX,
INFLAMATÓRIOS, ATIVIDADE FÍSICA E CONSUMO ALIMENTAR DOS IDOSOS
DO EMISUS**

Porto Alegre
2020

CRISTIANE ALVES BORGES

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE
DEPENDENTE DE MANGANÊS (MnSOD) COM MARCADORES REDOX,
INFLAMATÓRIOS, ATIVIDADE FÍSICA E CONSUMO ALIMENTAR DOS IDOSOS
DO EMISUS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, na Escola de Medicina, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), como requisito obrigatório para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Dra. Maria Gabriela Valle Gottlieb

Porto Alegre

2020

Ficha Catalográfica

B732a Borges, Cristiane Alves

Associação do Polimorfismo da enzima Superóxido Dismutase dependente de Manganês (MnSOD) com Marcadores REDOX, Inflamatórios, Atividade Física e Consumo Alimentar dos idosos do EMISUS / Cristiane Alves Borges . – 2018.

115 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, PUCRS.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Gabriela Valle Gottlieb.

1. Polimorfismo Val16Ala-SOD2. 2. Inflamação. 3. Consumo Alimentar. 4. Gasto Energético. 5. Idosos. I. Gottlieb, Maria Gabriela Valle. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecária responsável: Salete Maria Sartori CRB-10/1363

CRISTIANE ALVES BORGES

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE
DEPENDENTE DE MANGANÊS (MnSOD) COM MARCADORES REDOX,
INFLAMATÓRIOS, ATIVIDADE FÍSICA E CONSUMO ALIMENTAR DOS IDOSOS
DO EMISUS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, na Escola de Medicina, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), como requisito obrigatório para obtenção do título de mestre.

Aprovada em: 20 de março de 2018

BANCA EXAMINADORA:

Orientadora: Dra. Maria Gabriela Valle Gottlieb

Dra. Prof^a Alessandra Loureiro Morassutti

Dr. Prof. Rodolfo Herberto Schneider

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos”.

Marcel Proust

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pelas oportunidades que tive na vida, pelas pessoas maravilhosas que cruzaram em meu caminho e muito me ensinaram.

A minha orientadora Maria Gabriela Valle Gottlieb que sempre me motivou a seguir em meus estudos e que sempre acreditou que eu poderia ir mais além, mais do que só me orientar mostrou-se uma verdadeira amiga.

A professora Alessandra Loureiro Morassutti no qual tive a honra de conhecer e que muito me ensinou no laboratório.

A amiga Paula Engroff que foi um anjo desde o meu primeiro dia no laboratório, sempre com um sorriso e disposta a ajudar.

Quero agradecer minha mãe Eliane Alves por acreditar em mim, por sempre ter me apoiado e me incentivado a continuar nessa jornada.

Também agradeço a minha irmã Aline Alves e minha prima Graziela Felix por terem feito parte de tudo isso em minha vida e aos meus afilhados que amo muito, Lorenzo e Flávia.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

RESUMO

INTRODUÇÃO: O envelhecimento é um processo biologicamente natural, que envolve diversas alterações morfofisiológicas. Alguns estudos têm preconizado que o consumo alimentar rico em frutas, verduras e proteínas e a prática regular de exercícios físicos, podem contribuir para alcançarmos um envelhecimento com menos morbidades. Por outro lado, estudos têm sugerido que um consumo alimentar pobre em alimentos ricos em moléculas antioxidantes combinado com o sedentarismo está intimamente associado a inflamação crônica e ao estresse oxidativo. A ação de sistemas antioxidantes pode minimizar os danos causados pelos radicais livres e/ou espécies reativas de oxigênio (RL/ERO) ao organismo. Uma das principais enzimas de defesa contra (RL/ERO) é a enzima superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD). O gene que codifica essa enzima é polimórfico e a variante Val16Ala e está ligada ao envelhecimento, estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis. **OBJETIVO:** verificar a associação do polimorfismo Val16Ala com marcadores REDOX e inflamatórios, juntamente com dieta em idosos participantes da pesquisa do EMISUS. **MÉTODOS:** Estudo transversal, observacional e descritivo. A partir dos dados obtidos no Estudo Epidemiológico e clínico dos Idosos atendidos pela Estratégia de Saúde da Família (ESF) do Município de Porto Alegre - EMISUS, realizado entre março de 2011 a dezembro de 2012. Em todos os indivíduos, foram investigadas as seguintes variáveis: Demográficas: gênero, idade, estado civil, escolaridade e renda; Antropométricas: peso, altura, índice de massa corporal (IMC) e circunferência da cintura; Bioquímicas: colesterol-total (Col-T), triglicerídeos, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e glicose; Inflamatórias: Proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) e Interleucina-6 (IL-6); Marcadores REDOX: produtos avançados da oxidação proteica (AOPP), a albumina modificada pela isquemia (IMA), os metabólitos do óxido nítrico (NOx) a capacidade de redução férrica plasmática (FRAP), e Malondialdeído (MDA) e polimorfismo do gene da MNSOD. O polimorfismo Val16Ala foi avaliado por *Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP); Atividade física: sedentários, ativos e gasto calórico; Dieta: ingestão de frutas, verduras e proteínas de origem vegetal e animal. Os dados foram analisados por meio de análise estatística descritiva (porcentagem, mediana, média e desvio padrão) e ANOVA. Para a verificação do equilíbrio entre as frequências alélicas e genotípicas foi aplicado a

fórmula de Hardy-Weinberg. O nível de significância empregado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS: foram avaliados 270 idosos com média de idade de $68,5 \pm 7,5$ anos. A maioria da amostra composta pelo gênero feminino 168 (62,2%) e maioria da raça branca 175 (65,8%). As frequências alélicas foram as seguintes: $A = 0,54$ e $V = 0,46$ e as frequências genotípicas foram: 54,4% de AV, 18,5% VV e 27,03% de idosos com o genótipo AA. Idosos com genótipo AA têm, mais frequentemente, AOPP no quartil 25 [$157,8 \mu\text{molL}$ ($137,1 \mu\text{molL}$ - $190,9 \mu\text{molL}$)], enquanto que idosos com genótipo VV possuem AOPP no quartil 75 [$103,6 \mu\text{molL}$ ($96,8 \mu\text{molL}$ - $114,0 \mu\text{molL}$)] ($P = 0,023$). Idosos com genótipo AA têm, mais frequentemente, FRAP no quartil 50 [$627,0 \mu\text{molL}$ ($526,0 \mu\text{molL}$ - $718,5 \mu\text{molL}$)] e genotípicos VV, no quartil 25 [$190,0 \mu\text{molL}$ ($100,0 \mu\text{molL}$ - $370,0 \mu\text{molL}$)] ($P = 0,038$). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os genótipos da MNSOD com os marcadores oxidativos MDA, NOx e IMA. Sobre a ingestão alimentar, a maioria dos idosos relataram o consumo de duas ou mais porções semanais de legumes e ovos (87,2%) e 66,7% e consumiam pelo menos, duas porções diárias ou mais de frutas e vegetais. Observou-se que os heterozigotos consumiam duas porções diárias ou mais de frutas e vegetais ($P = 0,017$), os homozigotos para o alelo A, ingerem duas ou mais porções semanais de legumes e ovos, ($P = 0,002$). A mediana do HOMA-IR foi maior nos idosos com genótipos VV em relação aos portadores do genótipo AV ($P = 0,029$), a mediana da insulina foi maior nos indivíduos do genótipo VV, em relação aos AV ($P = 0,025$). Em relação ao perfil lipídico, constatou-se que o grupo com o do genótipo AA apresent maiores médias de concentração da lipoproteína de alta densidade, em relação aos AV ($P = 0,029$).

CONCLUSÃO: O polimorfismo Val16Ala está associado com os níveis de AOPP e FRAP e também está associado ao consumo de frutas, verduras, legumes e ovos, bem como a fatores de risco cardiometabólicos em idosos. Porém, não foi encontrada associação desse polimorfismo com o gasto calórico nessa amostra.

Palavras-chave: Polimorfismo Val16Ala-MNSOD, Inflamação, Consumo Alimentar, Gasto energético, Desbalanço REDOX, Idosos.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Aging is a biologically natural process involving several morphophysiological changes. Some studies have recommended that food consumption rich in fruits, vegetables and proteins and the regular practice of physical exercise, can contribute to achieve an aging with fewer morbidities. On the other hand, studies have suggested that poor food intake in foods rich in antioxidant molecules combined with sedentary lifestyle is closely associated with chronic inflammation and oxidative stress. The action of antioxidant systems can minimize the damage caused by free radicals and / or reactive oxygen species (RL / ERO) to the body. One of the major defense against (RL / ERO) enzymes is the manganese-dependent enzyme superoxide dismutase (MnSOD). The gene encoding this enzyme is polymorphic and the Val16Ala variant is linked to aging, oxidative stress, and non-transmissible chronic diseases. **PURPOSE:** to verify the association of the Val16Ala polymorphism with REDOX and inflammatory markers, along with diet in the elderly participants of the EMISUS study. **METHODS:** Cross-sectional, observational and descriptive study. Based on the data obtained in the Epidemiological and Clinical Study of the Elderly attended by the Family Health Strategy (FHS) of the Municipality of Porto Alegre - EMISUS, conducted between March 2011 and December 2012. In all individuals, the following variables were investigated : Demographic: gender, age, marital status, schooling and income; Anthropometric: weight, height, body mass index (BMI) and waist circumference; Biochemical: total cholesterol (Col-T), triglycerides, high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL) and glucose; Inflammatory: C-reactive protein (USP) and Interleukin-6 (IL-6); REDOX markers: advanced protein oxidation products (AOPP), ischemia-modified albumin (IMA), nitric oxide metabolites (NOx), plasma iron abatement capacity (FRAP), and malondialdehyde (MDA) and MNSOD gene polymorphism. The Val16Ala polymorphism was evaluated by Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP); Physical activity: sedentary, active and caloric expenditure; Diet: intake of fruits, vegetables and proteins of plant and animal origin. Data were analyzed using descriptive statistical analysis (percentage, median, mean and standard deviation) and ANOVA. For the verification of the balance between allele and genotype frequencies the Hardy-Weinberg formula was applied. The level of significance was set at $p < 0.05$. **RESULTS:** 270 elderly people

with mean age of 68.5 ± 7.5 years were evaluated. Most of the sample consisted of the female 168 (62.2%) and the majority of the white 175 (65.8%). The allele frequencies were as follows: A = 0.54 and V = 0.46 and the genotype frequencies were: 54.4% of AV, 18.5% VV and 27.03% of elderly with AA genotype. Older individuals with AA genotypes more frequently have AOPP in the quartile 25 [157.8 μmolL (137.1 μmolL -190.9 μmolL)], whereas elderly individuals with VV genotype have AOPP in the quartile 75 [103,6 μmolL (96, 8 μmol -114.0 μmolL)] ($P = 0.023$). Older individuals with AA genotypes more frequently have FRAP in the quartile 50 [627.0 μmolL (526,0 μmolL -718,5 μmolL)] and genotypic VV, in quartile 25 [190,0 μmolL (100,0 μmolL -370, 0 μmolL)] ($P = 0.038$). No statistically significant differences were observed between MNSOD genotypes and MDA, NO_x and IMA oxidative markers. Regarding food intake, most of the elderly reported consuming two or more weekly portions of vegetables and eggs (87.2%) and 66.7% and consuming at least two daily servings or more of fruits and vegetables. It was observed that heterozygotes consumed two or more daily servings of fruits and vegetables ($P = 0.017$), homozygotes for allele A, ingested two or more weekly portions of vegetables and eggs, ($P = 0.002$). The median HOMA-IR was higher in the elderly with VV genotypes than in the AV genotype ($P = 0.029$), the median insulin was higher in the VV genotype than in the AV ($P = 0.025$). In relation to the lipid profile, it was verified that the group with that of the AA genotype presented higher averages of high density lipoprotein concentration, in relation to the AV ($P = 0.029$). **CONCLUSION:** Val16Ala polymorphism is associated with AOPP and FRAP levels and is also associated with fruit, vegetable, vegetable and egg consumption, as well as cardiometabolic risk factors in the elderly. However, no association of this polymorphism with the caloric expenditure in this sample was found.

Key words: Val16Ala-MNSOD Polymorphism, Inflammation, Food Consumption, Energy expenditure, REDOX Unbalance, Elderly.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Formação dos radicais livres (RL).....	21
FIGURA 2. Fatores externos contribuindo para o dano celular, participação das EROS no desenvolvimento de patologias, com contribuição de fatores externos. O aumento intracelular de EROs pode resultar em oxidação de proteínas, e danos ao DNA.....	23
FIGURA 3. Equilíbrio entre a produção de EROs e o sistema antioxidante.....	25

LISTA DE SIGLAS

AOPP	Produto avançado da oxidação Protéica
APOE	Alipoproteína E
DCNT	Doenças Crônicas não Transmissíveis
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EF	Exercício Físico
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
ESF	Estratégia da Saúde da Família
FRAP	Habilidade antioxidante de redução férrica plasmática
H2O2	Peróxido de Hidrogênio
HO•	Radical Hidroxila
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL10	Interleucina-10
IL6	Interleucina-6
IMA	Determinação de Marcador Isquêmico
NOx	Metabólitos do Óxido Nítrico
O²	Oxigênio
O₂•	Superóxido
PCR	Proteína C-reativa
PCR-us	Proteína C-reativa ultra-sensível
RL	Radicais Livres
SM	Síndrome Metabólica
SOD	Superóxido Dismutase
MnSOD	Dismutase Dependente de Manganês
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Envelhecimento Demográfico	19
2.2 Envelhecimento Biológico	20
2.3 Radicais Livres (RL) e Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)	21
2.4 Estresse Oxidativo e Antioxidantes	23
<i>2.4.1 Marcadores do Estresse Oxidativo e Inflamatório</i>	25
<i>2.4.1.1 Marcadores Metabolismo REDOX</i>	26
<i>2.4.1.2 Marcadores Inflamatórios</i>	31
2.5 Polimorfismo Da Superoxido Dismutase (MNSOD)	33
2.6 Atividade Física	35
2.7 Consumo Alimentar	36
3. JUSTIFICATIVA	38
4. OBJETIVOS	39
4.1 Objetivo Geral	39
4.2 Objetivos Específicos	39
5. METODOLOGIA	41
5.1 Delineamento	41
5.2 População	41
<i>5.2.1 Tamanho Amostral do Emisus</i>	42
<i>5.2.2 Cálculo Tamanho Amostral do Presente Projeto</i>	42
5.3 Critérios	42
<i>5.3.1 Inclusão</i>	42
<i>5.3.2 Exclusão</i>	42
5.4 Variáveis	43
5.5 Instrumentos	43
<i>5.5.1 Antropometria</i>	43

5.5.2. Variáveis Bioquímicas.....	44
5.5.3 Determinação de Marcadores Inflamatórios.....	46
5.5.4 Determinação de Marcadores Oxidativos	46
5.5.5 Extração do DNA.....	47
5.5.6. Genotipagem do Polimorfismo do Gene da MnSOD.....	47
5.6 Atividade Física.....	48
5.7 Ingestão de Frutas, Verduras e Proteínas.....	48
5.8 Logística Do Estudo	48
5.8.1 Análise Estatística.....	49
5.9 Aspectos Éticos	49
6. Artigo Científico submetido: MnSOD Val16Ala fene polymorphism is associated with REDOX biomarkers in the elderly of primary health care.....	50
7. Artigo 2: Associação do tabagismo com biomarcadores REDOX e fatores de risco cardiometabólico em idosos.....	70
8. Considerações Finais.....	79
9. Conclusão.....	81
10. Referências.....	82
ANEXO 1. QUESTIONNAIRE FOR ASSESSMENT OF LEISURE TIME PHYSICAL ACTIVITIES – MINNESOTA.....	95
ANEXO 2. MINI AVALIAÇÃO NUTRICIONAL.....	99
ANEXO 3. QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO GLOBAL DO IDOSO.....	100
ANEXO 4. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE.....	104
ANEXO 5. TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	105
ANEXO 6 ADENDO DO TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	107
ANEXO 7 PARECER/CONEP.....	108

ANEXO 8 ADENDO DO TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PUCRS.....	113
ANEXO 9 - PARECER/PROCESSO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PREFEITURA MUNICIPAL DE PORTO ALEGRE.....	114

1 INTRODUÇÃO

Os idosos, pessoas com mais de 60 anos, já somam 23,5 milhões dos brasileiros, mais que o dobro do registrado em 1991, quando a faixa etária contabilizava 10,7 milhões de pessoas. O número de idosos dobrou nos últimos 20 anos no Brasil, e a tendência de envelhecimento da população brasileira solidificou-se mais uma vez na nova pesquisa do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011). Na comparação entre 2009 (última pesquisa divulgada) e 2011, o grupo aumentou 7,6%, ou seja, mais 1,8 milhão de pessoas idosas. Em contrapartida o número de crianças de até quatro anos no país caiu de 16,3 milhões, em 2000, para 13,3 milhões, em 2011. Em 2017 o IBGE divulgou as estimativas das populações residentes nos 5.570 municípios brasileiros, com data de referência em 1º de julho de 2017, estimando que o Brasil tenha 207,7 milhões de habitantes e uma taxa de crescimento populacional de 0,77% entre 2016 e 2017.

O envelhecimento é um processo em que ocorre múltiplos fatores, tanto endógenos quanto exógenos, os quais devem ser considerados de forma integrada, sobretudo, em situações diagnósticas, (PALÁCIOS et al., 2009). Do ponto de vista biológico, o envelhecimento caracteriza-se pelas mudanças moleculares, morfológicas e funcionais resultantes do próprio ciclo de vida, porém, nem toda mudança que ocorre em nosso organismo está fundamentalmente ligada à idade por si só. É necessário incluir outros fatores que contribuem para essas mudanças no organismo, como o ambiente, nutrição (dieta rica em fibras e em moléculas antioxidantes) e atividade física (COLL et al., 2004). O envelhecimento é um processo desencadeado ao longo do tempo e segundo Troen (2003), pode ser classificado em dois tipos: um biológico normal onde as modificações se dariam dentro de padrões universais e outro usual onde, adicionalmente ocorreria o aumento da prevalência de doenças crônicas que fragilizam o indivíduo (organismo) e potencializam ou aceleram o envelhecimento.

Dentro deste contexto, um dos grandes fatores envolvidos no processo de envelhecimento é o desbalanço redox celular gerando estresse oxidativo. Os radicais livres (RL) formados, principalmente a partir de processos metabólicos (ciclo do ácido cítrico) que envolvem a participação de O₂ e servem para extrair átomos de hidrogênio dos nutrientes para serem transformados em ATP, promovem perturbações que podem ser benéficas ou deletérias de acordo com a demanda e a capacidade de

administração dos níveis de oxidação pelos agentes antioxidantes (INDAO, 2010). Estudos indicam que a atividade de moléculas antioxidantes é capaz de amenizar o impacto dos RL ou Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) em sistemas vivos. Os antioxidantes impedem que o oxigênio se combine com moléculas suscetíveis ou neutralizam a formação de RL e EROs, formando compostos menos reativos. Os antioxidantes podem ser compostos moleculares de origem exógena como as vitaminas, obtidos através da alimentação, ou enzimas endógenas do sistema de defesa antioxidante, como por exemplo, a Superóxido Dismutase Dependente de Manganês (MnSOD) (DRÖGE, 2002).

A Superóxido dismutase (SOD) é uma enzima cuja atividade interfere nas concentrações de $O_2 \cdot^-$ e H_2O_2 , os dois substratos da reação de *Haber – Weiss* que origina os radicais OH e provavelmente por isso, a SOD representa um mecanismo de defesa central dos organismos vivos (BOWLER et al., 1992; ALSCHER et al., 1998).

O papel de polimorfismos no gene da MnSOD e sua influência tanto nos processos de prevenção ou aceleração de doenças. Um dos polimorfismos mais estudados deste gene é o Val16Ala, que é causado por uma mutação estrutural no gene. Esta mutação provoca a substituição de uma timina por uma citosina na sequência codificadora, convertendo o códon GTT (valina) para GCT (alanina). Três genótipos são descritos neste polimorfismo: genótipo AA (-9Ala/-9Ala), genótipo AV (-9Ala/-9Val) e genótipo VV (-9Val/-9Val). Recentemente tem-se investigado o papel de polimorfismos no gene da MnSOD e sua influência tanto nos processos de prevenção ou aceleração de doenças.

Portanto, uma vez que os estudos indicam que o estresse oxidativo está associado a doenças crônicas, aumento de marcadores inflamatórios e disfunção endotelial, é fundamental aprofundar as investigações sobre estas interações, a fim de auxiliar na elucidação das mesmas, visando à prevenção da morbi-mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (FORSTERMANN, 2008).

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve o objetivo em verificar a associação do polimorfismo da enzima superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD) com marcadores redox, inflamatórios, atividade física e dieta dos idosos do EMISUS.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Envelhecimento Demográfico

O Brasil está em um processo acelerado de envelhecimento, tendo já atravessado as etapas iniciais do processo de transição epidemiológica e mesmo (no caso de algumas áreas localizadas de regiões metropolitanas mais desenvolvidas) atingido seu estágio final. Em todo o mundo, o número de pessoas com 60 anos ou mais está crescendo mais rapidamente do que o de qualquer outra faixa etária. De acordo com nova pesquisa do IBGE. Os idosos, pessoas com mais de 60 anos já somam 23,5 milhões dos brasileiros, mais que o dobro do registrado em 1991, quando a faixa etária contabilizava 10,7 milhões de pessoas, em comparação entre 2009 (última pesquisa divulgada) e 2011, o grupo aumentou 7,6%, ou seja, mais 1,8 milhão de pessoas. O Brasil, até 2025, será o sexto país em número de idosos (Organização Pan-Americana da Saúde, 2015). Vale ressaltar que, embora a fecundidade seja o principal componente da dinâmica demográfica brasileira, em relação à população idosa, é a longevidade que vem progressivamente definindo sua evolução. No Brasil, também começa a acontecer outro fenômeno observado mundialmente, que é o maior crescimento proporcional dos grupos etários mais elevados (maiores de 75 anos). Em 2050 pela primeira vez haverá mais idosos que crianças menores de 15 anos. Em 2012, 810 milhões de pessoas tinham 60 anos ou mais, constituindo 11,5% da população global.

Projeta-se que esse número alcance 1 bilhão em menos de dez anos e mais que duplique em 2050, alcançando 2 bilhões de pessoas ou 22% da população global (IBGE, 2010). De modo geral, o processo de envelhecimento, independentemente dos fatores étnicos, sociais e culturais inerentes a cada população, está associado a uma maior probabilidade de acometimento por DCNT. O processo de envelhecimento normal envolve alterações desde o nível molecular, passando pelo morfofisiológico até o funcional. Estas alterações estão associadas à própria idade, como também se originam do acúmulo de danos, ao longo da vida, causados, sobretudo pela interação entre fatores genéticos e hábitos não saudáveis, como uma dieta desbalanceada,

tabagismo, etilismo, sedentarismo e poluição ambiental (GOODPASTER et al., 2006; SPIRDUSO, 2005).

Um estilo de vida inadequado tem por aumentar a ineficiência metabólica, que contribui substancialmente para a quebra da homeostasia corporal. Tal fato, lentamente, torna o indivíduo mais suscetível a lesões orgânicas, culminando no desencadeamento de DCNT (TROEN, 2003). Nesse caso, o Rio Grande do Sul (RS), é um dos estados com maior prevalência e mortalidade por DCNT, como câncer de mama, próstata e doenças cardiovasculares (DCV). Essas evidências levantam a hipótese de que exista, além de componentes genéticos predisponentes a uma maior probabilidade de desenvolver alguma DCNT (herdados, advindos de um histórico multiétnico), fatores culturais associados, como o hábito alimentar peculiar dessa região (GOTTLIEB et al., 2011).

2.2 Envelhecimento Biológico

Todos os seres vivos são regidos por um determinismo biológico e sendo assim, o envelhecimento envolve processos que implicam na diminuição gradativa da possibilidade de sobrevivência, acompanhada por alterações regulares na aparência, no comportamento, na experiência e nos papéis sociais (MORAGAS, 1997). Em relação à saúde do idoso, vários são os aspectos que implicam. De um lado, o envelhecer como um processo biológico e progressivo de diminuição de reserva funcional, a senescência. E por outro, o desenvolvimento de uma condição patológica por estresse emocional, acidente ou doenças (Ministério da Saúde, 2006). Os termos envelhecimento e senescência são usados como sinônimos porque ambos se referem às alterações progressivas que ocorrem nas células, nos tecidos e nos órgãos. O termo senescência descreve um período de mudanças relacionadas à passagem do tempo que causam efeitos deletérios no organismo. A senescência representa um fenótipo complexo da biologia que se manifesta em todos os tecidos e órgãos. Esse processo afeta a fisiologia do organismo e exerce um impacto na capacidade funcional do indivíduo ao torná-lo mais suscetível às doenças crônicas (BALCOME; SINCLAIR, 2001).

Dessa forma, a velhice é construída aos poucos e de forma progressiva, dando início às variáveis biológicas e sociais, a respeito disso muitos autores tentam explicar

essa construção, surge então como uma possível explicação às teorias biológicas do envelhecimento (DAVIDSON, 1991). Existem várias teorias biológicas do envelhecimento, que tentam explicar como e porque envelhecemos, contudo, dentro do objetivo do presente estudo, a teoria dos RL, proposta em 1956 por Denham Harman, estabelece que o envelhecimento advém dos efeitos deletérios nas organelas celulares, causados pelas EROs.

As EROs, como o oxigênio singlete (O_2) e os radicais superóxido (O_2^-) e hidroxila (OH), são geradas fisiologicamente nos organismos aeróbios (BECKMAN; AMES, 1998) conforme ilustra a (figura 1). A teoria dos RL com base no DNA mitocondrial (mtDNA), denominada teoria mitocondrial do envelhecimento, postula que os mecanismos regulatórios da produção de radicais livres vão se tornando ineficientes com o envelhecimento e o acúmulo desses superóxidos causa danos nas membranas, provocando uma disfunção mitocondrial que pode culminar em lesões teciduais e morte do tecido (JOHNSON et al., 1999).

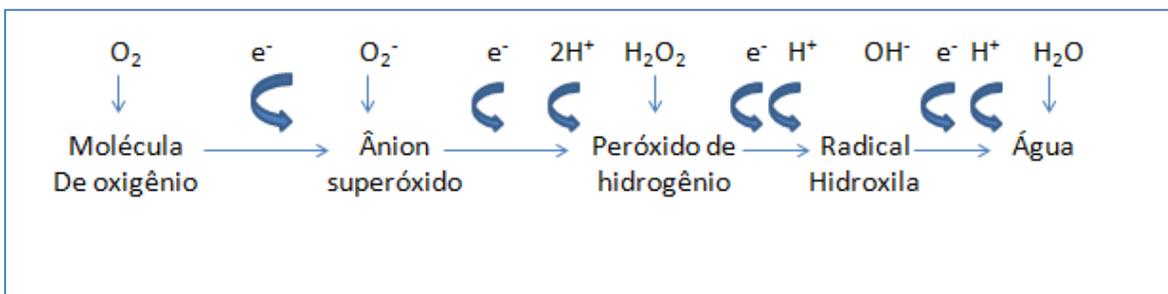


FIGURA 1. Formação dos radicais livres (RL). FONTE: Adaptada da tese (GILMARA, 2017)

2.3 Radicais Livres (RL) e Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)

Por definição os radicais livres, são espécies geradas durante processos de oxido-redução que ocorrem no metabolismo celular dos seres vivos, onde estão envolvidos com produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intracelular e síntese de biomoléculas importantes (BARREIROS et al., 2006). Os RL participam de importantes funções benéficas no organismo. Por exemplo, os radicais provenientes do oxigênio exercem ações críticas na transcrição e na regulação de genes em células. Por outro lado, o excesso na produção dos RL

ou nas EROs, que ocasiona ao organismo um desequilíbrio entre a produção de espécies e sua eliminação através de mecanismos protetores antioxidantes (DURACKOVÁ & REUTER, 2010). A maioria das EROs são extremamente reativas e altamente tóxicas, são capazes de reagir com várias moléculas orgânicas, o equilíbrio entre a produção e a eliminação de EROs é mantido por um mecanismo complexo de defesa antioxidante, que compreende enzimas tais como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e o ciclo de enzimas glutatona (KIRSCHIVINK; LEKEUX, 2005).

Os RL podem promover reações com substratos biológicos levando danos às biomoléculas e conseqüentemente, afetando a saúde humana. O estresse oxidativo causado por estes RL provocam alteração dos lipídeos conhecida como peroxidação lipídica, além de danos oxidativos no DNA e proteínas (grupos carbonilas e sulfidrilas) (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 2010). A peroxidação lipídica altera a fluidez das membranas, ocasionando assim uma menor seletividade no transporte iônico e na sinalização transmembrana, o que afeta negativamente o transporte celular (FERRARI; FRANÇA; HONORIO-FRANÇA, 2009). O envelhecimento quando associado a radicais livres podem estar envolvidos na redução dos telômeros, fenômeno conhecido como encurtamento telomérico. A telomerase, enzima que catalisa a adição de bases nitrogenadas em sequências repetitivas nas extremidades dos cromossomos, ajuda a regenerar os telômeros. Devido à ausência de ação da telomerase em muitas células somáticas, o comprimento do telômero vai encurtando a cada divisão celular promovido pelo reparo das células danificadas, até que a célula comece a entrar em senescência (GAVA; ZANONI, 2005; DELL'ANNA et. al., 2007; AVIV, 2009).

O estresse oxidativo pode vir a ativar a via de sinalização do fator nuclear kappa beta (NFkB) (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 2010; FERRARI; FRANÇA; HONORIO-FRANÇA, 2009) que, por sua vez, induz a ativação de genes que inibem a morte celular (por apoptose ou necrose) porém, quando os processos de morte celular não ocorrem de acordo com suas características morfológicas e bioquímicas pode causar mitose catastrófica e senescência, alterações na coordenação desses tipos de morte celular estão implicadas na tumorigênese (processos tumorais) além de provocar a imunossenescência, atrofia muscular e inflamação (SALMINEN; KAARNIRANTA, 2009; DIMRI, 2005; RICCI, 2006).

Os organismos aeróbicos desenvolveram sistemas de defesa eficientes contra o estresse oxidativo, os chamados antioxidantes. Quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes, lesões oxidativas de caráter cumulativo podem ocorrer (NIKKI, 2010). (Como ilustra na figura 2).

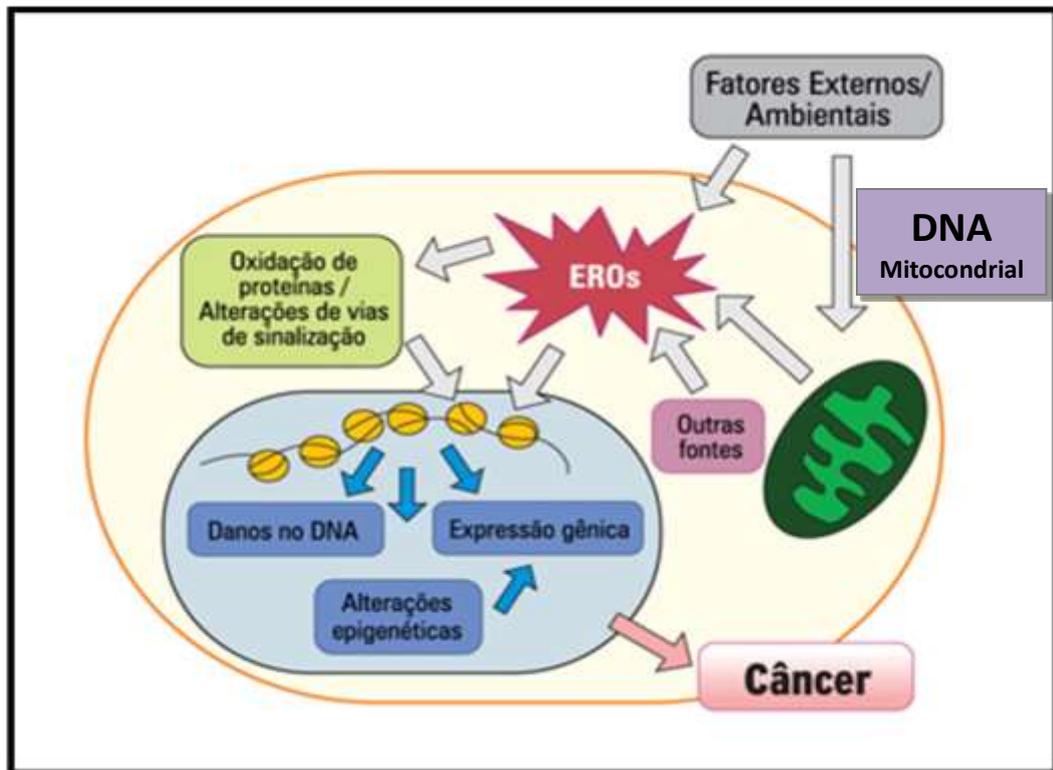


FIGURA 2. Fatores externos contribuindo para o dano celular, participação das EROs no desenvolvimento de patologias, com contribuição de fatores externos. O aumento intracelular de EROS pode resultar em oxidação de proteínas, e danos ao DNA. (SILVA & JASIULIONIS, 2014).

2.4 Estresse Oxidativo e Defesas Antioxidantes

A instalação do processo do estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, esta falta de equilíbrio ocasiona uma produção excessiva de RL ou em detrimento da velocidade de remoção desses. Tal processo leva à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja consequência é o dano

oxidativo potencial contra células e tecidos (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). Este dano promove alterações como peroxidação lipídica, fragmentação de DNA e oxidação de diferentes moléculas, levando à morte celular (BARBOSA, 2010).

A atividade das moléculas antioxidantes é capaz de amenizar o impacto dos RL em sistemas vivos, os antioxidantes impedem que o oxigênio se combine com moléculas suscetíveis, ou neutralizam a formação de RLs e EROs, formando compostos menos reativos. Os antioxidantes podem ser compostos moleculares de origem exógena como as vitaminas, obtidos através da alimentação, ou enzimas endógenas do sistema de defesa antioxidante (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Estudos relataram que as causas do envelhecimento e do surgimento de um número de doenças, podem estar relacionadas com as EROs, como por exemplo, reumatismo, hepatite, enterite e carcinogênese (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Sabe-se também que muitas doenças neurológicas podem ter na sua base etiológica os EROs; como por exemplo, a doença de Alzheimer e Parkinson, as quais podem ser desencadeadas por anomalias nas defesas biológicas ou o aumento dos níveis intracelulares de EROs. Assim, o aumento do estresse oxidativo em um organismo provoca danos nas células, consideradas a menor unidade constituinte da espécie humana, levando ao surgimento de múltiplas morbidades (INDO et al., 2015).

Os antioxidantes estão envolvidos na regulação da função de enzimas esteroideogênicas dependentes do citocromo P450, tanto o ácido ascórbico como a SOD podem exercer efeitos inibitórios sobre a aromatase, que por sua vez é a enzima responsável pela conversão de andrógenos a estrógenos, o que poderia favorecer o acúmulo de androgênios no conteúdo folicular, propiciando a atresia folicular (MURRAY et al., 2001; VERIT et al., 2007). Os níveis de hidroperóxidos podem indicar indiretamente a atividade da SOD, quando estão aumentados sugerem que há aumento no potencial de produção de espécies reativas, além de serem moléculas importantes nos mecanismos de sinalização celular (KINGSLEY et al., 1998; IMAI, 2004). Mediante então a este estresse oxidativo, as células desenvolveram um mecanismo de homeostase, por meio da ação de enzimas antioxidantes endógenas: SOD, Glutathiona Peroxidase (gGPX), e Catalase (CAT) (SAEED et al; 2005) (como observa-se na fig. 3). O envelhecimento é um processo que pode estar relacionado com o aumento de EROs circulante. A teoria dos radicais de oxigênio, desenvolvida por HARMAN (2003), propunha que o envelhecimento poderia ser secundário ao estresse oxidativo, e que levaria a reações de oxidação lipídica, proteica, e com o

DNA, que desencadeariam alterações lentas e progressivas dos tecidos e do código genético.

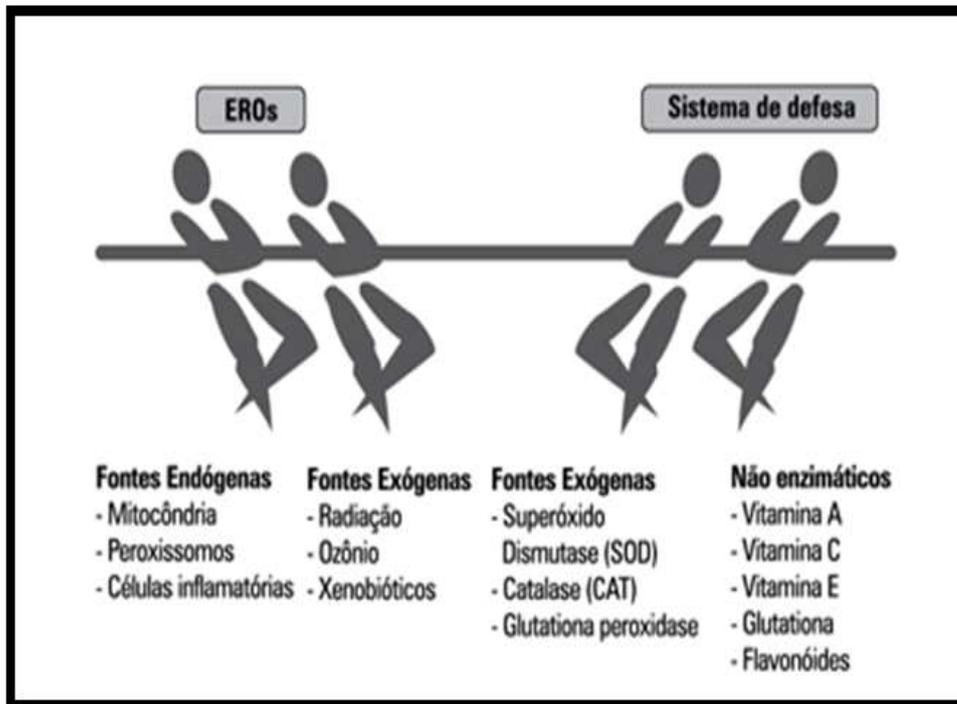


FIGURA 3. Equilíbrio entre a produção de EROs e o sistema antioxidante. (Silva & JASIULIONIS, 2014).

2.4.1 Marcadores do Estresse Oxidativo e Inflamatório

Existem diferentes métodos para mensurar o grau de estresse oxidativo, podendo ser através da avaliação das concentrações de subprodutos ou dos promotores do dano oxidativo. Esses métodos fornecem as dimensões do dano oxidativo, e esse dano inerente pode ser avaliado com a mensuração de seus mais diversos marcadores. Com o resultado dessas mensurações pode ser acompanhado a evolução fisiopatológica das doenças nas quais o estresse oxidativo está incluído, assim como saber quais potenciais danos estarão associados aos processos patológicos em estudo. O outro mecanismo é através do status ou capacidade antioxidante do meio em questão, o qual ocorre em resposta ao estresse oxidativo ou como forma de adaptação do organismo àquela situação desfavorável (NIKK, 2010).

Tanto o estresse oxidativo quanto a inflamação são condições subjacentes às diversas doenças crônicas associadas a idade, e estão sendo considerados fatores etiológicos para as mesmas. O próprio processo de envelhecimento pode afetar negativamente ambos os sistemas, embora uma dieta, rica em fibras, verduras e frutas, pobre em gorduras saturadas e açúcar, somado à prática regular de atividade física podem modular de forma benéfica o balanço redox e a produção de citocinas inflamatórias. Além disso, os estudos têm mostrado que o estresse oxidativo pode ser um determinante dos níveis de PCR-us promovendo processos inflamatórios pró-aterogênicos em estágios iniciais do desenvolvimento da doença coronariana, tendo uma relação direta com a associação da síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2 (KEANY et al., 2003; KASAP et al., 2007). Em virtude da disfunção imunológica decorrente do envelhecimento, o organismo do idoso apresenta uma acentuação de biomarcadores inflamatórios, decorrente de maior circulação de citocinas pró-inflamatórias como interleucina-6 e a proteína C-reativa (PCR), as quais estão associadas a diversas patologias (CRAFT, 2012).

Diversos estudos têm sugerido que diferentes marcadores oxidativos e inflamatórios estão associados ao envelhecimento e doenças crônicas, porém a literatura ainda é escassa em mostrar se os níveis desses marcadores estão associados ao polimorfismo da MNSOD. Para o presente estudo descreveremos os seguintes marcadores oxidativos e inflamatórios:

2.4.1.1 Marcadores do metabolismo REDOX

- Albumina modificada pela Isquemia (IMA)

Uma das proteínas mais abundantes do sangue é a albumina (entre 3,5g/dL e 5,0g/dL) sendo sintetizada pelo fígado, possuindo um baixo peso molecular (66,5 kDa) e solúvel em água. Entre outras funções, atua na manutenção da osmolaridade entre o compartimento sanguíneo e intersticial, transporte de drogas e metais (BHAGAVAN et al., 2003). A albumina possui 585 aminoácidos e, na sua região N-terminal, contém a sequência de N-Asp-Ala-His-Lis, que tem demonstrado ser um sítio de fortes ligações aos metais de transição, como o

cobalto, cobre e níquel. A região N-terminal da albumina tem uma afinidade inerente pelo íon metal cobalto - Co (II) (BHAGAVAN et al., 2003). Na presença de processo isquêmico, a região N-terminal da molécula, especificamente o sítio de ligação aos metais de transição, passa por uma redução na sua capacidade de ligação formando a albumina modificada pela isquemia (IMA) (BHAGAVAN, et. al., 2003; BAR-OR, et. al., 2001). Segundo o autor BAR-OR et. al., (2001), a IMA pode ser um biomarcador precoce para isquemia miocárdica sem necrose. Outros estudos mostraram que a IMA está aumentada em isquemia miocárdica transitória induzida por vasoespasmos, podendo também ser um marcador para tal evento. Porém, propõe que o aumento nos níveis séricos do marcador, pode também ser atribuído a processos oxidativos relacionados a injúrias de outros órgãos. Estudos sobre a associação dos níveis da IMA com isquemia em pacientes cardíacos têm preconizado ser um potencial marcador útil para o rápido diagnóstico de isquemia aguda do miocárdio, auxiliando na avaliação dos pacientes com baixo e intermediário risco de infarto (MORROW, et. al., 2003).

- Produtos avançados de oxidação proteica (AOPP):

A medida de produtos avançados de oxidação proteica (AOPP) vem sendo descrita como um marcador de estresse oxidativo, é aplicado para estimar o dano oxidativo à proteína, podendo assim prever a potencial eficácia de estratégias destinadas a diminuir o estresse oxidativo, os AOPP são derivados de proteínas altamente oxidadas, em especial a albumina, fibrinogênio e lipoproteína. O fibrinogênio quando oxidado tem sido indicado como molécula-chave responsável para os AOPP presentes no plasma humano (WITKO-SARSAT et al., 1996; SELMECI, 2011; KELLY et al., 2002; FRIEDLANDER et al., 2002). Os principais alvos das EROs são o DNA, as proteínas e os lipídeos (FUJII, et al., 2005). Neste caso, níveis elevados do marcador AOPP, são encontrados em pacientes com patologias caracterizadas por altos níveis de produção de espécies reativas como diabetes, nefropatia diabética e retinopatia, aterosclerose, tendo sido também propostos como mediadores patogênicos de diversas complicações (PANDEY; RIZVI, 2010; KALOUSOVA et al., 2002; PIWOWAR et al., 2007). Fisiologicamente AOPP são formados durante toda a vida, em quantidades pequenas e tendem a aumentar com a idade, os AOPP são

reconhecidos como marcadores oxidativos de proteínas e a intensidade desse estresse além da inflamação (KALOUSOVÁ et al., 2005; ALAGOZLU et al., 2013).

- Metabólitos do Óxido Nítrico (NOx):

O óxido nítrico (NO) é um neurotransmissor e regulador da pressão sanguínea, e dentre todos os mediadores vasoativos, é sintetizado no endotélio pela sintase endotelial do óxido nítrico (eNOS) através da conversão do aminoácido L-arginina e oxigênio em L-citrulina. O NO exerce papel dos mais importantes na regulação da resistência vascular, contribui para a manutenção da homeostase vascular, promovendo além da vasodilatação, a inibição da agregação e adesão plaquetárias, modificações oxidativas do colesterol LDL, limitando assim a proliferação das células e diminuindo a expressão de genes pró-inflamatórios que promovem o desenvolvimento da aterosclerose (FORSTERMAN, 2008). Na presença de estresse oxidativo e do dano endotelial é percebida uma redução da bioatividade do NO. Um dos mecanismos que explicam esta redução ocorre pelo sequestro e inativação pelo ânion superóxido. Além disso, evidências indicam que o estresse oxidativo persistente causa disfunção da eNOS, que desacopla, cessando assim a produção do NO e passa a produzir EROs como o ânion superóxido (FORSTERMAN, 2008; MONCADA et al., 1991). Entre as espécies citadas NO, nitritos e nitratos, as concentrações no plasma dos principais produtos da oxidação do NO são mais comumente utilizados (OHTOSHI et al., 2002; YOON et al., 2002; TSUKADA et al., 1998; NAGASSAKI et al., 2005). Os nitritos são derivados da reação do NO com oxigênio em solução e são biologicamente ativos. Já os nitratos, que são biologicamente inativos, são produzidos através da oxidação dos nitritos pela oxihemoglobina nas hemácias (NORIS et al., 2004; DAVIS et al., 2001; CASTILLO et al., 1996). Os Metabólitos do Óxido Nítrico (NOx) surgem com o objetivo de monitorar o estado de saúde de pacientes com doenças cardiovasculares e promissora e serem utilizados no campo clínico como biomarcadores do estado patológico (GHASEMI, 2010). Pode ser quantificado seletivamente através de sua redução no plasma do NO livre, que pode ser detectado com alta sensibilidade (pico mols) através de sua reação quimiluminescente com ozônio (O₃) (ELISA, 2011).

- Habilidade Redutora do Ferro pelo Plasma ou poder Antioxidante redutor do Ferro (FRAP):

Considerado útil para avaliar a capacidade antioxidante mensurando o “status antioxidante”. Representados pelos chamados “testes de potência” ou Teste de força antioxidante do plasma. A avaliação é via redução do complexo Fe^{3+} -TPTZ que avaliam a capacidade redutora dos fluidos corpóreos, isto é, a capacidade destes fluidos reduzirem a oxidação, tendo como base o fato de que a habilidade de um composto em produzir Fe^{2+} a partir de Fe^{3+} define sua força antioxidante. Os teste FRAP baseia-se também na redução do complexo 2,4,6-tripiridil-s-triazina férrico ($[\text{Fe(III)}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ no complexo ferroso de cor azul intensa $[\text{Fe(II)}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ por ação de compostos antioxidantes no plasma sanguíneo, entre eles, principalmente o ácido úrico e as vitaminas C e E (BENZIE;STRAIN,1996). Os ataques decorrentes de radicais livres que são bloqueados pela ação de antioxidantes e a identificação de efeito coordenado destes agentes no plasma humano, evidencia uma maior proteção em relação à ação isolada de qualquer antioxidante. O método FRAP quando utilizado para verificar o status antioxidante em indivíduos com doença de Alzheimer, encontrou menor capacidade antioxidante no plasma dos sujeitos, portadores do polimorfismo do gene da apolipoproteína E, cujo os genótipos apoE e3/e3, apoE e4/e4, possuem maior incidência na doença de Alzheimer (PULIDO, 2005). Em contrapartida um antioxidante que reduz efetivamente um pró-oxidante, não reduz, necessariamente, Fe^{3+} a Fe^{2+} . As limitações do método FRAP são, portanto: nem todo redutor que é hábil para reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} é antioxidante; nem todo antioxidante tem a habilidade específica para reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} , como por ex., a glutathione. O resultado final pode ser convertido a mmol de equivalentes de trolox por litro de plasma (PRIOR et al., 2003).

- Superóxido Dismutase Dependente de Manganês (MnSOD):

Para lidar com os danos oxidativos causados pelos RL e as EROs e manter a homeostase REDOX, os organismos aeróbios desenvolveram sistemas de defesa eficientes de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes de origem endógena em células eucarióticas são enzimas eficientes de defesa, tais como a família superóxido dismutase, sendo elas a superóxido dismutase (SOD1 ou citosólica dependente de cobre e zinco, MnSOD ou mitocondrial dependente de manganês e a SOD3 ou extracelular dependente de cobre e zinco), a catalase, a glutathione peroxidase, bem como, a glutathione redutase (GR), a glutathione (GSH), a coenzima Q (Q10) e a melatonina (KENDALL & ZELKO, 2002). Para melhor detalhamento, a ação da enzima SOD permite a eliminação do $O_2^{\cdot-}$ mesmo em baixas concentrações. Existem duas formas de SOD no organismo, a primeira contém Cu^{2+} e Zn^{2+} como centros redox, ambas ocorrem no citosol, e sua atividade não é afetada pelo estresse oxidativo e a segunda contém Mn^{2+} como centro redox, e ocorre na mitocôndria e sua atividade aumenta na presença de estresse oxidativo. O segundo sistema de prevenção é muito mais simples, sendo formado pela enzima catalase que atua na dismutação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em oxigênio e água (BABIOR; BRAZ, 1997). A MnSOD é especializada na eliminação de radicais ânion superóxido produzidos principalmente na matriz mitocondrial como subprodutos do metabolismo de oxigênio através da cadeia de transporte de elétrons, uma das ações é proteger o DNA das lesões provocadas pela sobrecarga de Fe^{2+} (BARREIROS, et al., 2006). Alguns estudos demonstram que níveis elevados da MNSOD estão associados à inibição do crescimento de muitos tipos de células tumorais, e também, a um menor risco de invasão tumoral e a um menor índice de metástases. Já índices reduzidos da MnSOD também têm sido relacionados a uma maior agressividade tumoral, sendo que vários autores sugerem seu uso como fator prognóstico (HRISTOZOV et al., 2001; CULIEN et al., 2003; LIN et al., 2001). O acúmulo de radicais livres danifica as biomoléculas devido ao estresse oxidativo, causando assim o envelhecimento por acarretarem disfunções nas células. Outros estudos, demonstram um comportamento heterogêneo do sistema de defesa antioxidante em relação ao envelhecimento, ou seja, ao contrário do esperado, não se observa, necessariamente deficiência do sistema conforme a espécie vai envelhecendo (NOHL, 1993; LOPES-TORRES et. al., 1993).

2.4.1.2 Marcadores Inflamatórios

- Interleucina-6 (IL-6)

A IL-6 é uma proteína de baixo peso molecular, denominada citocina, secretada principalmente por macrófagos e células T, que age tanto na resposta imune inata quanto na adaptativa e atua contra microrganismos ou lesões que possam gerar inflamação (SOUZA; COLS, 2008). Entre suas principais funções, está a estimulação da produção de Interferon Gama (INF-g) pelos linfócitos T, células NK e macrófagos (OKAMURA, 1998; FANTUZZ, 1999). Segundo o autor JIANG et al. (2010), o tecido adiposo é uma importante fonte de IL-6 para a circulação sistêmica existindo uma correlação direta entre a produção de IL-6 e a massa adiposa corporal. Há evidências de que o tecido adiposo visceral seja o maior responsável por essa produção, já em outros estudos abordam que, uma redução da massa adiposa através do emagrecimento é acompanhada de uma redução das concentrações circulantes de IL-6 (VAN SNICK, 1990). O conteúdo plasmático de IL-6 apresenta-se positivamente correlacionado ao aumento da massa corporal, dessa forma, quanto maior o acúmulo de gordura corporal, maior a expressão de IL-6 pelo tecido adiposo, segundo o autor FRIED et al. (1998). Em outros estudos na literatura, abordam que, indivíduos que apresentam dosagens elevadas de citocinas pró-inflamatórias têm demonstrado associação com doenças relacionadas ao envelhecimento, e trás como exemplo o Alzheimer (BHOJAK et al., 2000) e osteoporose (HOBSON; RALSTON, 2001). Como exemplo desta associação, dosagens elevadas de IL-6 têm sido associadas com maior prevalência de morbidades entre os idosos, sendo considerado por vários autores como fator causador da incapacidade funcional e mortalidade (HARRIS et al., 1999). Segundo alguns estudos a IL-6 é um importante ativador das células imunes e pode participar da instabilização da placa aterosclerótica (ERSHLER, 1993; YAMAGAMI et. al., 2004). Além disso, a IL-6 também espelha os fatores de risco cardiovasculares em um modelo semelhante ao da PCR e seus níveis aumentam com a idade (ERSHLER, 1993; ERSHLER; KELLER, 2000). Já autor PEDERSEN (2006) aborda que durante atividade física e no exercício a IL6 é produzida em resposta ao estresse agudo, assumindo um papel antiinflamatório na regulação das funções metabólicas.

- Proteína-C Reativa ultrasensível (PCR-us)

A proteína C reativa (PCR) foi descoberta em 1930 e recebeu esse nome porque reagia com o polissacarídeo-C dos pneumococos na fase aguda da pneumonia pneumocócica (WALLACH, 2000). É sintetizada pelo fígado após um estímulo como, por exemplo, lesão tecidual, inflamação e/ou infecção. Também pode ser produzida nas lesões ateroscleróticas por células musculares lisas e macrófagos, rins, neurônios, alvéolos pulmonares e tecido adiposo (RIDKER, 2005; GABAY; KUSHNER, 1999). Como os métodos tradicionalmente utilizados para sua dosagem não possuem uma boa sensibilidade, é recomendado dosar a PCR-us para melhor avaliação da doença aterotrombótica, que possui níveis de PCR geralmente mais baixos que os outros processos inflamatórios (LIBBY, et al., 2002; MACY, et al., 1997; ROBERTS, et al., 2001; DANESH, et al., 2000). A PCR-us é um dos marcadores inflamatórios mais sensíveis e deriva principalmente da biossíntese hepática dependente da IL-6, sofrendo elevada resposta a trauma, inflamação e infecções. Atualmente existe um método ultrasensível (US) para a dosagem de PCR, este método mede exatamente a mesma PCR que o exame convencional, mas é capaz de detectar concentrações muito menores da PCR (limite de detecção - 0,03 mg/L) (MOUTSOPOULOS, 1983). A PCR-us está sendo usualmente utilizada como marcador de monitoramento de diversos quadros inflamatórios, assim como, a IL-6 produzida, principalmente por monócitos e macrófagos, classificada como uma citocina pró-inflamatória, que em excesso provoca efeitos deletérios como choque, coagulação intravascular disseminada, falência múltipla de órgãos e possivelmente ao óbito (CUMMINGS; KHACHATURIAN, 2001; HUODA, 2006). A proteína C reativa (PCR) é uma das proteínas de fase aguda (PFA), que são aquelas cuja concentração sérica aumenta ou diminui pelo menos 25% durante estados inflamatórios (PIERRAKOS; VINCENT, 2010). Alguns estudos trazem que a PCR, possui dados ainda não consistentes e que ela parece ter menor poder como preditor em idosos, quando comparada aos indivíduos de meia-idade, porém já existem métodos bem padronizados para a dosagem de PCR-us, que também é um marcador estável que possui uma meia-vida longa (18 a 20 horas) e a sua dosagem pode ser feita tanto em plasma congelado quanto fresco, sem a exigência de cuidados especiais para coleta. No ano de 2002, a American Heart Association e o Centro

Americano de Controle de Doenças recomendaram a solicitação de marcadores inflamatórios, especialmente a PCR, por possuir maior disponibilidade de métodos de dosagem, para melhorar a predição de eventos coronarianos entre pacientes com risco intermediário pelo Escore de Risco de Framingham (PEARSON et. al., 2003). Essa recomendação foi importante para a população idosa, visto que grande parte das mulheres americanas com mais de 65 anos já teria critérios para ser classificada sob risco intermediário (WILSON, et al., 1998). Os níveis de PCR parecem aumentar de forma discreta com o envelhecimento em homens, mas não em mulheres, de acordo com outros estudos (ROBERTS, et al., 2001). Já outros afirmam que existem poucas evidências para afirmar que seus valores aumentem após os 70 anos (DANESH, et al., 2001).

2.5 Polimorfismo da Superóxido Dismutase (SOD)

O polimorfismo da MnSOD diminui a eficiência do transporte da enzima para a mitocôndria, ocasionando na baixa defesa antioxidante da mesma contra as EROs. O polimorfismo provoca uma mudança conformacional de uma estrutura secundária de folha- β pregueada para uma estrutura α -hélice, sendo assim, há uma atividade de MNSOD reduzida, o que por sua vez aumenta o estresse oxidativo (BRESCIANI, et al., 2013). Aproximadamente 5% do oxigênio que chega até as mitocôndrias não compõe o processo de síntese de ATP e transforma-se em EROs e por ser uma molécula altamente reativa que, potencialmente, causa oxidação de moléculas que participam da estrutura e função celular, o superóxido é dismutado em peróxido de hidrogênio e O₂ pela MnSOD (CAI et al., 2004 & COLS, 2004). O produto final do gene da MnSOD é nuclear, ou seja, a síntese da enzima ocorre pela transcrição e processamento de uma molécula de mRNA que vai para o retículo endoplasmático rugoso e neste local produz uma proteína da MNSOD não-funcional. Esta proteína possui um segmento proteico (*mitochondrial target sequence*, MTS) que faz o direcionamento do transporte da MnSOD para dentro da mitocôndria.

Uma mutação estrutural de T para C na sequência de codificação que altera o codão de aminoácido na posição -9 no peptídeo sinal de valina (GTT) para alanina (GCT). As sequências de nucleotídeos foram depositados com o número de acesso

D83493. Cálculo de um potencial de formação de hélice de acordo com ao algoritmo de CHOU & FASMAN (2013) revelou que os resíduos 10-17 do peptídeo sinal com o alelo de alanina em -9 posição (resíduo 16) foram previstos para formar uma estrutura helicoidal (SHIMODA-MATSUBAYASHI et al., 1996).

O gene (MnSOD) está localizado no cromossomo 6q25. Sendo a única enzima antioxidante conhecida presente no interior da mitocôndria. Considerando a relevância da MnSOD como a primeira linha de defesa da produção de EROs, o gene que codifica a MnSOD é de grande importância na manutenção de níveis de EROs celulares. Quando herdado o polimorfismo, os possíveis genótipos que ocorrem nas populações humanas são: AA, AV e VV. As investigações bioquímicas e moleculares sugeriram que o alelo A apresenta uma estrutura proteica α -hélice que se torna mais eficiente no transporte da MnSOD do citosol para o interior da mitocôndria e também na metabolização do $O_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 (SUTTON et al., 2004; COLS et al., 2004). Porém, os resultados parecem divergir, uma vez que outros estudos epidemiológicos sugerem associação do genótipo AA com um risco maior de desenvolver câncer de próstata, mama e cólon (BICA et al., 2009; COLS et al., 2004; WANG et al., 2009; CHAISWING, ZHONG E OBERLEY, 2014). Uma hipótese para explicar estes resultados seria que a maior taxa de dismutação do $O_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 não causaria uma regulação compensatória das enzimas catalase e glutathione peroxidase na metabolização desta molécula em água (COLS et al., 2004; WANG et al., 2009). Essas lesões do DNA mitocondrial causadas pelo estresse oxidativo merecem destaque pelo fato da mitocôndria ser a principal fonte de EROs. Por esse motivo, o DNA está exposto a altos níveis de espécies reativas, promovendo mutações nos genes das próprias enzimas antioxidantes e causando danos no organismo. Esta substituição de C para T (TCG para TTG), que é alanina para valina, resulta em alterações estruturais no direcionamento mitocondrial domínio de β -folha de α -hélice, o que induz um aumento de 30-40% na atividade de MNSOD em mitocôndrias (BRESCIANI et al., 2013; BANERJEE; CUBAS, 2013; VATS et al., 2015).

2.6 Atividade Física

A prática de atividade física, como um estilo de vida saudável é reconhecida por diversos autores como benéfica para diferentes funções do organismo, e estudos comprovam que a prática de atividade física pode minimizar a perda da capacidade cardiovascular, a qual está diretamente relacionada com a hipóxia cerebral, prevenindo, deste modo, doenças degenerativas no idoso (LENG, 2009; ANTUNES, 2006). Vale ressaltar que a prática de atividade física regular e constante mantém o indivíduo ativo, preservando o bom funcionamento biológico (DE MELLO, 2005).

Com a prática de atividade física, há a síntese das citocinas pró-inflamatórias, TNF- α e IL-1b, que, por sua vez, estimulam a síntese de IL-6, que atua como mediador primário da reação de fase aguda, estimulando a produção hepática de proteínas de fase aguda, como a PCR e inibidores de proteases (por exemplo, inibidor de protease a-1), sendo assim, a IL-6 restringe a extensão da resposta inflamatória por aumentar a síntese de citocinas antiinflamatórias. A resposta de fase aguda restabelece proteínas depletadas ou lesadas revertendo os efeitos prejudiciais da resposta inflamatória inicial. Vista desse ângulo, a IL-6 desempenha papel mais restaurativo do que pró-inflamatório (ROGERO et al., 2005). A IL-6 também estimula a glândula hipófise a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que promove, subsequentemente, o aumento da liberação do hormônio cortisol a partir do córtex adrenal (NIEMAN et al., 2005). A maior parte dos efeitos induzidos pelo exercício físico, como por exemplo, o aumento da massa muscular, melhora do sistema cardiovascular, redução da incidência de doenças e infecções, é devida, principalmente, às adaptações induzidas sobre os diversos sistemas corporais, incluindo o sistema antioxidante endógeno (RADAK et al., 2001).

Exercícios físicos de alta intensidade e baixa duração promovem também a liberação da citocina IL-6 pelo músculo inibindo a produção de TNF-alfa e, induzindo a produção da citocina interleucina-10 (IL-10), um dos principais agentes antiinflamatórios associados ao exercício (HERRERO; IZQUIERDO, 2012). A prática de exercícios físicos está relacionada ao aumento e ativação de enzimas antioxidantes, por exemplo, a MnSOD, levando à redução dos níveis de EROs. Já foi mostrado que a prática regular de exercícios físicos pode atuar retardando o envelhecimento e reduzindo o risco de doenças crônicas (CORBIN, 2012). No entanto,

a prática deve ser moderada em quantidade e intensidade, já que os níveis de EROs podem aumentar durante exercícios muito intensos, principalmente quando realizados de maneira não periódica (CARDOSO, 2012). Contudo, a atividade física isolada parece não ser capaz de prevenir ou mitigar doenças, um estilo de vida ativo e saudável deve incluir uma dieta equilibrada acima de tudo.

2.7 Dieta

Os alimentos provenientes da dieta fornecem nutrientes essenciais necessários para a vida, como as vitaminas, aminoácidos, sais minerais e fibras. Mas, também tem a capacidade de fornecer compostos bioativos cujas propriedades biológicas são importantes, promotoras de saúde, tais como atividade antioxidante, antiinflamatória e anticarcinogênica. Nesse caso, o tipo dos alimentos ingeridos pode influenciar no estado oxidativo das células. A ingestão de frutas e vegetais, ricos em vitaminas, aumenta o potencial antioxidante, principalmente no sangue (WAHLQVIST, 2013). A vitamina C é um dos principais antioxidantes oriundos da dieta. Os níveis de ingestão recomendados para a dieta são de 75 a 125 mg por dia, dependendo de características individuais, como idade, peso e sexo. O consumo exagerado de vitamina C é desnecessário, já que o máximo de absorção é de aproximadamente 200 mg por dia (HARRISON, 2012). Entre os alimentos ricos em vitamina C estão a goiaba, o caju, a laranja, a manga, entre outros, existe estudos clínicos e epidemiológicos que elucidam essa evidência de que esses compostos bioativos dos alimentos são os principais fatores que contribuem para a redução significativa da incidência de doenças degenerativas e doenças crônicas (SILVA; TASSARA, 2001). A dieta pode ser rica nesses compostos, como, por exemplo, os flavonóides, capazes de diminuir e até mesmo inibir o efeito deletério das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em nosso organismo. Esses compostos estão presentes em alimentos como folhas, frutas, raízes, entre outros (FINLEY, 2011).

Devido à existência de diversos tipos de compostos bioativos, em especial os compostos fenólicos, tem-se desenvolvido vários métodos de análise da capacidade antioxidante. Alguns destes métodos avaliam a capacidade observando apenas o sequestro de radicais livres (OLIVEIRA, 2009). Alguns autores eferiram uma ingestão

diária de frutas, hortaliças e vinho em 50% dos idosos entrevistados. Um hábito muito disseminado entre os idosos de Veranópolis é o consumo de chá de maçã e de vinho, que têm potencial antioxidante e anticarcinogênico. Em média, os idosos consumiam 284 mL/dia de vinho (SIVIERO, 2002). Ao estudar a relação entre a composição da dieta, estado fisiológico e risco de doença, métodos confiáveis e válidos para avaliação da dieta são essenciais. Tradicionalmente, os métodos de avaliação da ingestão alimentar foram subjetivos, com o uso de ferramentas como diários alimentares, QFA, e recordatório de 24 horas (POLLARD et al., 2003).

O aumento do consumo de frutas e verduras aumenta a capacidade antioxidante do plasma, e a capacidade de redução férrica (FRAP) é um método que pode ser utilizado para monitorizar este (SAMMAN et al., 2003; CAO et al., 1998). No entanto, não foi observado esse efeito positivo da ingestão de frutas e verduras no valor FRAP em todos os estudos de intervenção (SVENDSEN et al., 2007). O FRAP depende de contribuições de uma variedade de antioxidantes da dieta e seus metabólitos, mas antioxidantes endógenos, especialmente o ácido úrico, também contribuem, e como resultado FRAP pode ser insensível a pequenas mudanças na ingestão de antioxidantes derivados de frutas e verduras (BENZIE; ATRAIN, 1996).

3 JUSTIFICATIVA

Dentro do que foi abordado, a proposta do presente estudo foi verificar se existe a associação do polimorfismo da MnSOD, marcadores do metabolismo REDOX, inflamatórios, dieta e atividade física em idosos do EMISUS. Muitos estudos têm mostrado que tanto o polimorfismo da MnSOD, quanto os biomarcadores do metabolismo REDOX, dieta e atividade física, são fatores de proteção no desencadeamento de doenças crônicas associadas ao envelhecimento, porém o inverso também é verdadeiro. Contudo, a literatura ainda é controversa e inconclusiva ao tentar responder a existência de uma associação entre todos esses fatores, ou seja, existe diferença nos níveis dos biomarcadores oxidativos de acordo com o genótipo da MnSOD, assim como também, pode existir diferença na ingestão de frutas, legumes e verduras em relação aos genótipos da MnSOD ou será que existe diferença em relação ao nível de atividade física de acordo com os três genótipos da MnSOD? Além disso, os estudos não mostram essas informações de forma integrada, por isso estudos que avaliem de forma mais conectada essas variáveis são fundamentais.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Estudar possível associação do polimorfismo da enzima superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD) com marcadores redox, inflamatórios, atividade física e consumo alimentar dos idosos do EMISUS.

4.2 Objetivos Específicos

- Descrever os níveis de marcadores inflamatórios (PCR-us e IL-6) e do metabolismo redox (AOPP, IMA, NOx e FRAP);
- Determinar as frequências alélicas e genótípicas do polimorfismo da enzima antioxidante superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD);
- Descrever a frequência de ingestão de frutas, verduras e proteínas;
- Descrever o nível de atividade física;
- Verificar se há associação do polimorfismo da enzima MnSOD com os níveis de AOPP, NOx, IMA, FRAP, IL-6 e PCR-us;
- Verificar se há associação do polimorfismo da enzima MnSOD com o nível de atividade física dos idosos e com a frequência de ingestão de frutas, verduras e proteínas;
- Verificar se há associação entre o nível de atividade física com os marcadores do metabolismo REDOX e inflamatório dos idosos;

- Verificar se há associação entre a frequência de ingestão de frutas, verduras e proteínas com os marcadores do metabolismo REDOX e inflamatório dos idosos;
- Verificar se há associação entre o nível de atividade física com a frequência de ingestão de frutas, verduras e proteínas dos idosos da amostra;

5 METODOLOGIA

5.1 Delineamento

Estudo transversal, observacional e descritivo. Em uma amostra aleatória da população de idosos atendidos pela Estratégia de Saúde da Família do município de Porto Alegre.

5.2 População

O estudo foi realizado com a amostra de idosos participantes do Estudo Epidemiológico e Clínico dos Idosos Atendidos pela Estratégia de Saúde da Família do Município de Porto Alegre (EMISUS), desenvolvido por uma equipe de pesquisadores do Instituto de Geriatria e Gerontologia da PUCRS (IGG-PUCRS), o método do tal projeto se encontra descrito por Gomes et al (2013). O EMISUS foi realizado entre março de 2011 a dezembro de 2012 com idosos provenientes de 30 diferentes equipes da Estratégia e Saúde da Família (ESF). Para a composição da amostra do projeto do EMISUS, foram sorteados 1080 idosos, provenientes dessas 30 diferentes equipes da ESF, sendo 36 idosos de cada ESF, recrutados de forma aleatória. As ESF foram sorteadas de forma estratificada por gerência distrital (gd), com a intenção de cada gerência compor o estudo com aproximadamente 30% de seu número total de equipes. Desta forma, foram sorteadas quatro (4) equipes da gd norte/eixo baltazar, duas (2) da gd sul/ centro-sul, duas (2) da gd restinga/ extremo sul, seis (6) da gd glória/ cruzeiro/ cristal, três (3) da gd noroeste/ humaitá/navegantes/ ilhas, quatro (4) da gd partenon/ lomba do pinheiro, sete (7) da gd leste/nordeste e duas (2) da gd centro.

5.2.1 Tamanho Amostral do EMISUS

Para o cálculo do tamanho amostral do estudo guarda-chuva EMISUS foi utilizado o programa “sample.exe” do pacote estatístico PEPI para DOS, versão 4. Foi utilizado um nível de significância de 0,05. Considerando uma população alvo de 22.000 idosos, atendidos pela ESF em Porto Alegre, foi definido um tamanho amostral de 900 indivíduos, considerando diferentes margens de erro aceitáveis para diferentes prevalências, conforme quadro 1 abaixo. Por motivo de segurança, devido as possíveis perdas amostrais foram sorteados 1080 idosos.

5.2.2 Cálculo Tamanho Amostral do Presente Projeto

Como o presente estudo faz parte do projeto guarda-chuva “Estudo Epidemiológico e Clínico dos Idosos Atendidos pela Estratégia da Saúde da Família (ESF) do município de Porto Alegre (EMISUS)” e, portanto, utilizando os dados previamente coletados, o cálculo do tamanho amostral para este não se aplica.

5.3 Critérios

5.3.1 Inclusão

- Todos os idosos >60 anos, do banco de dados do EMISUS que contemplarem todas as variáveis para o presente estudo.

5.3.2 Exclusão

- Idosos tabagistas, que tenham abandonado o tabagismo há menos de 24 meses;
- Idosos que não foram encontrados nos bancos de dados estudados no projeto, ou não tenham coletadas as variáveis elencadas nesse projeto.

5.4 Variáveis

- Em todos os indivíduos, serão investigadas as seguintes variáveis:

- 1) Demográficas: Gênero, idade, estado civil, escolaridade e renda;
- 2) Antropométricas: Peso, altura, índice de massa corporal (IMC) e circunferência da cintura;
- 3) Bioquímicas: Colesterol-total (Col-T), triglicerídeos, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e glicose;
- 4) Inflamatórias: Proteína C reativa ultra-sensível (PCR-us) e Interleucina-6 (IL-6);
- 5) Marcadores REDOX: AOPP, NOx, FRAP, IMA
- 6) Genética: Polimorfismo do gene da MnSOD;
- 7) Atividade física: Sedentários, ativos e gasto calórico;
- 8) Dieta: Ingestão de frutas, verduras e proteínas de origem animal.

5.5 Instrumentos

5.5.1 Antropometria

As variáveis antropométricas foram coletadas por uma equipe de nutricionistas, no Hospital São Lucas da PUCRS

- Peso e altura: foram medidos com o paciente em ortostatismo, vestindo roupa leve e descalço. O peso corporal foi medido através de balança (Tec, Oregon Ccientific) e a altura com o estadiômetro (Cardiomed seca).
- Índice de massa corporal (IMC): foi utilizado o índice de Quetelet ($IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$). Valores até 25 kg/m^2 foram considerados normais; entre 25 kg/m^2 e 30 kg/m^2 , sobrepeso; e acima de 30 kg/m^2 , obesidade conforme recomendação do Ministério da Saúde, 2006.
- Circunferência abdominal (CA): foi medida com fita flexível (Sanny Medical) e foi definida como a menor medida de uma circunferência no nível da cicatriz umbilical, no final do movimento expiratório. Aqueles com CA acima de 102 cm, no caso de homens, e acima de 88 cm, em se tratando de mulheres, foram caracterizados como portadores de obesidade abdominal (tipo centrípeto).

5.5.2. Variáveis Bioquímicas

As análises bioquímicas e o polimorfismo da SOD foram realizados no laboratório de Parasitologia, Bioquímica e Genética Molecular (LABGEMP). Os marcadores redox, no laboratório de toxicologia na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), e os inflamatórios em laboratório particular.

- **Perfil lipídico (PL):** A classificação dos valores de referência para o CT e LDL-c corresponderão aos critérios das IV Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias (2007). TG e HDL-c corresponderão aos critérios diagnósticos do NCEP III (2002). CT $< 200 \text{ mg/dL}$ ou HDL-c $< 40 \text{ mg/dL}$ (homens) e $< 50 \text{ mg/dL}$ (mulheres) ou LDL-c $< 130 \text{ mg/dL}$ ou TG $< 150 \text{ mg/dL}$.
 - a) Colesterol total (CT): foi mensurado pelo método enzimático padronizado utilizando reagentes Ortho-Clinical Diagnostics® em um analisador

automático (Vitros 950[®] dry chemistry system; Johnson & Johnson, Rochester, NY, USA).

- b) HDL-colesterol (high density lipoprotein= HDL-c): foi utilizada a técnica de precipitação com Heparina-Mn²⁺ de Gildez com algumas modificações para a determinação plasmática do HDL-c. As lipoproteínas que contenham Apolipoproteínas B-100 (as VLDL e LDL) foram precipitadas com heparina-Mn²⁺ (Sigma Chemical Co, USA); após, incubadas e centrifugadas (centrífuga refrigerada Model RB-18II, Tomy Seiko Co. Ltd, Japan). Foi coletado, então, o sobrenadante para quantificação das partículas de HDL-c através de reação enzimática colorimétrica para colesterol, sendo considerado como valor final a média de 2 determinações realizadas para cada amostra plasmática.
- c) Triglicerídeos (TG): foi mensurado pelo método enzimático padronizado utilizando reagentes Ortho-Clinical Diagnostics[®] em um analisador automático (Vitros 950[®] dry chemistry system; Johnson & Johnson, Rochester, NY, USA).
- d) LDL colesterol (low density lipoprotein= LDL-c): foi obtido pela fórmula de Friedewald (1972). Para valores de triglicérides inferiores a 400mg/dL.ⁱ As amostras com valores de triglicérides superiores a 400mg/dL foram excluídas.

$$\text{Fórmula de Friedwald} = \text{LDL} = \text{CT} - \text{HDL} - \text{VLDL}^*$$

$$^*\text{VLDL} = \text{TG}/5$$

- e) Glicemia de jejum: Foi mensurada pelo método enzimático padronizado utilizando reagentes Ortho-Clinical Diagnostics[®] em um analisador automático (Vitros 950[®] dry chemistry system; Johnson & Johnson,

Rochester, NY, USA). O valor de referência adotado foi de até 110 mg/dL normal (JAMA, 2001).

5.5.3 Determinação de Marcadores Inflamatórios

- - **IL-6: interleucina 6**; A quantificação de IL-6 foi realizada pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) usando Kits comerciais Biomyx Technology, San Diego, USA, seguindo o protocolo do fabricante.
- **PCR-us: PCR ultra sensível**: foi avaliada por nefelometria (Dade Behring, Newark, DE, EUA), utilizando anticorpo monoclonal para PCR-us humana (com limite de detecção de 0.175 mg/l e uma sensibilidade analítica de 0.04 mg/l), em alíquota de soro resfriado, conforme previamente descrito (CHEM, 1994).

5.5.4 Determinação de Marcadores Oxidativos

- **Produtos Protéicos de Oxidação Avançada (AOPP)**; A determinação dos níveis de AOPP foi realizada de acordo com Witko-sarsat et al., (1998), no analisador Cobas MIRA® (Roche Diagnostics, Basel, Suíça).
- **Óxido nítrico**: nitrito/nitrato (NOx); A mensuração dos níveis de NOx foi realizada conforme técnica descrita por Tatsch et al., (2011), no analisador Cobas MIRA® (Roche Diagnostics, Basel, Suíça).
- **Capacidade de redução férrica plasmática (FRAP)**: A dosagem de FRAP foi realizada conforme técnica descrita por Benzie et al., (1996), no analisador Cobas MIRA® (Roche Diagnostics, Basel, Suíça).
- **Albumina Modificada pela Isquemia (IMA)**: A IMA foi mensurada pelo teste baseado na avaliação da ligação do cobalto exógeno com a região

N-terminal da albumina (teste ACB), o qual tem sido sugerido para o uso na detecção de isquemia aguda do miocárdio (foi mensurada por ensaio colorimétrico com cobalto, descrito por Bar-Or, et al., 2000).

5.5.5 Extração do DNA

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

5.5.6. Genotipagem do Polimorfismo do Gene da MnSOD

Foi realizada pelo método de *Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)*, descrito por Ambrosone et al. (1999). A amplificação por PCR da sequência do gene MNSOD contendo o polimorfismo Val16Ala foi realizada utilizando-se 40 pmol dos *primers*. Taq polimerase e dNTPs utilizando tampão de reação. O produto amplificado contendo 107pb foi visualizado através de eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio. Após, a genotipagem será realizada por RFLP, onde o produto amplificado foi digerido pela endonuclease de restrição *HAEIII* (New England, Bio Labs, UK), utilizando-se 3U a 37°C por 16h. Os fragmentos digeridos foram visualizados por meio de eletroforese em gel de agarose 4% corado com brometo de etídio. Os fragmentos são: 93pb para o alelo A e 87pb para o alelo V.

5.6 Atividade Física

A atividade física foi avaliada através do *Minnesota Leisure Time Physical Activity (LTPA) Questionnaire*, por profissionais de educação física no Hospital São Lucas da PUCRS (ANEXO 1). Os valores correspondentes aos METs (equivalente metabólico) de cada atividade constituinte do protocolo Minnesota, foram extraídos do artigo de apresentação de uma versão em português do Compêndio de Atividades Físicas propostas por Ainsworth (1993). A classificação dos idosos em relação ao nível de atividade física praticado está fundamentado nas orientações do *American College of Sports Medicine (ACSM)* e da *American Heart Association (AHA)* (WILLIAM, et. al., 2007).

5.7 Ingestão de Frutas, Verduras e Proteínas

Foi avaliado através da Mini Avaliação Nutricional (MAN), por uma equipe de nutricionistas treinadas no hospital São Lucas da PUCRS (ANEXO 2).

5.8 Logística Do Estudo

O estudo compreendeu em três etapas, primeiramente, os agentes comunitários de saúde (ACS) pertencentes a cada ESFs, receberam um treinamento para aplicar o questionário para Avaliação Global do Idoso (ANEXO 3), o qual foi elaborado pelos pesquisadores do EMISUS, sendo então aplicados pelos ACS, no domicílio dos idosos. Este questionário contém as informações sobre faixa etária, sexo, nível socioeconômico e cultural. Posteriormente os idosos eram recrutados nas unidades de ESFs, para a realização das coletas de sangue realizadas por uma enfermeira, para posteriores exames bioquímicos, dosagem dos marcadores oxidativos, inflamatórios e polimorfismo genético, os idosos foram orientados a manter 12 horas de jejum. Por fim, a etapa para realização da aplicação dos instrumentos, tais como, Mini Avaliação Nutricional (MAN), *Minnesota Leisure Time Physical Activity*, ocorreram aos sábados, nas dependências do Hospital São Lucas da PUCRS.

5.8.1 Análise Estatística

Os dados analisados através do software estatístico SPSS versão 17. As variáveis foram descritas por meio de frequência absoluta e relativa, média e desvio padrão, mediana e intervalo interquartil. O cálculo das frequências alélicas e genotípicas foi realizado utilizando-se a fórmula de *Hardy-Weinberg* para análise do equilíbrio da frequência genotípica ($p^2 + 2pq + q^2$) e da frequência alélica ($p+q=1$). Para a confirmação ou não da hipótese de associação entre determinado alelo e/ou genótipo com atividade física ou dieta, foi verificada a associação entre as variáveis categóricas (frequências alélicas e genotípicas) e os diferentes grupos investigados utilizando-se o teste Qui-quadrado de Pearson e o teste Exato de Fisher. Para a comparação dos marcadores e dos fatores de risco cardiometabólico entre alelo/genótipos foi aplicado o teste T de Student, Mann Whitney, ANOVA com Post Hoc de Bonferroni e Kruskal-Wallis. Foram consideradas diferenças significativas as comparações que apresentaram um $p < 0,05$.

5.9 Aspectos Éticos

O presente projeto foi aprovado pela comissão científica do Instituto de Geriatria e Gerontologia da PUCRS Como o presente projeto faz parte do guarda-chuva EMISUS, todos os idosos incluídos no banco de dados do projeto assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 4), o qual foi apreciado e aprovado pela comissão científica do Instituto de Geriatria da PUCRS, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS em 26.01.2010 sob número of. cep-127/10 (ANEXO 5), bem como seu adendo, em 17.09.2010, sob número of. cep-965/10 (ANEXO 6), anterior à plataforma brasil, também foi aprovado pelo Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, sob o parecer de número: 701/2011(ANEXO 7), adendo do termo de aprovação do Comitê de Ética em pesquisa (ANEXO 8), e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura do município de Porto Alegre (em 26/10/2010, reg. 499), processo nº 001021434107 (ANEXO 9).

6 ARTIGO SUBMETIDO

Free Radical Research



MnSOD Val16Ala gene polymorphism is associated with REDOX biomarkers in the elderly of primary health care

Journal:	Free Radical Research
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Manuscript
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Borges, Cristiane; Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Biomedical Gerontology Program Closs, Vera; Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Instituto de Geriatria e Gerontologia Moresco, Rafael; Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Silva Filho, Irenio; Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul Gottlieb, Maria; PUCRS, Biomedical Gerontology Program
Keywords:	Aging, MnSOD, Advanced oxidation protein products (AOPP), Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP), Val16Ala polymorphism, oxidative stress

SCHOLARONE™
Manuscripts

1
2
3 **MnSOD Val16Ala gene polymorphism is associated with REDOX biomarkers in the**
4
5 **elderly of primary health care**
6
7
8
9

10 Cristiane Alves Borges¹, Vera Elizabeth Closs², Rafael Noal Moresco³, Irênio Gomes da Silva
11 Filho,¹ Maria Gabriela Valle Gottlieb¹
12

13 ¹Graduate Program in Biomedical Gerontology (GERONBIO) of the School of Medicine of the
14 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.
15

16 ²Instituto de Geriatria e Gerontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
17 (IGG - PUCRS), Porto Alegre/RS.
18

19 ³Department of Clinical and Toxicological Analysis, Health Sciences Center,
20 Federal University of Santa Maria, Santa Maria, Brazil.
21

22 Corresponding author: Maria Gabriela Valle Gottlieb
23

24 Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (IGG-PUCRS), Av. Ipiranga, 6690, 81,
25 7^o floor, Porto Alegre, Zipcode: 90610-000, RS – Brazil; Tel: +55 51 33368153; Fax: +55 51
26 33203862;
27

28 Email: maria.gottlieb@pucrs.br or vallegot@hotmail.com
29

30 Number of Words: 4554
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Abstract 245 words

Studies suggest that redox imbalance may be closely associated with pathological aging, contributing effectively to the genesis of various chronic diseases. One of the major defense enzymes against oxidation is Manganese-dependent Superoxide Dismutase (MnSOD) that acts within the mitochondria. The gene encoding this enzyme is polymorphic and the Val16Ala variant is one of its most investigated polymorphisms regarding aging and oxidative stress. This study aimed to verify the occurrence of association of the MnSOD Val16Ala gene polymorphism of with REDOX biomarkers in the elderly of primary health care. A cross-sectional, observational and descriptive study was performed. The sample consisted of 270 elderly people from the Family Health Strategy in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil (EMISUS). The following variables were investigated in all subjects: Sociodemographic: gender, age, marital status, schooling and income; Anthropometric: weight, height, Body Mass Index (BMI); REDOX markers: Advanced Oxidation Protein Products (AOPP), Ischemia-modified Albumin (IMA), nitric oxide metabolites (NOx), Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP), Malondialdehyde (MDA) and MnSOD Val16Ala gene polymorphism. Val16Ala gene polymorphism was evaluated by Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP). Statistically significant associations were observed in the elderly with AA genotype compared to those with VV genotype concerning AOPP ($p=0.023$) and FRAP ($p=0.027$) quartile frequencies, respectively. No statistically significant differences were observed between MnSOD genotypes with MDA, NOx and IMA oxidative markers. Val16Ala gene polymorphism is associated with AOPP and FRAP quartiles frequencies in the elderly of primary health care.

Keywords: Aging; MnSOD; Oxidative stress; Advanced oxidation protein products (AOPP); Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP); Val16Ala polymorphism.

Introduction

Several scientists have proposed over time different theories to explain how and why people age. One of the most investigated theories on this topic is Free Radicals (FR), proposed in 1956 by Harman [1], suggesting that aging is a stochastic event caused by FR and/or Reactive Oxygen Species (ROS) that cause damage to cellular organelles and macromolecules (proteins, lipids and DNA itself) [1]. FR and ROS are naturally produced by the metabolism of aerobic living organisms, and mitochondria are their largest endogenous source of production in eukaryotic organisms [2]. Under normal conditions of cellular functionality, there is a balance between the production of FR and ROS and the neutralization of oxidative surplus by antioxidant systems. In this sense, oxidative stress is a result of an imbalance in cellular redox status due to increased FR and/or ROS concentrations or decreased activity of one or more antioxidant systems; that is, under certain pathological conditions the production rate of FR and/or ROS is higher than the antioxidant response, altering the oxidant-antioxidant balance [3-5]. One of the most efficient endogenous eukaryotic cell enzymes that act on the front line against FR/ROS is Manganese-dependent Superoxide Dismutase (MnSOD) [6,7]. It acts in mitochondria and its activity increases in the presence of oxidative stress. A Val16Ala polymorphism in the mitochondrial sequence of the MnSOD gene may operate negatively on antioxidant defenses [8]. This polymorphism is caused by a mutation resulting in the replacement of thymine by a cytosine in the coding sequence, converting the codon GTT (valine) to GCT (alanine). Some authors suggest that this polymorphism alters the secondary structure of the protein, so this polymorphism changes the protein conformation from α -helix to β -pleated [9]. Studies suggest that this change may affect enzyme cell allocation and transport into the mitochondria. Sutton et al. suggest that the Ala-MnSOD allele produces 30-40% more of the matrix homotetramer protein than the Val-MnSOD precursor. In this case, Ala-MnSOD allows the efficient importation of MnSOD into the mitochondrial matrix, while the Val variant

1
2
3 promotes partial precursor arrest into the inner membrane and decreased active protein
4 formation within the mitochondrial matrix [8]. Thus, such polymorphism seems to interfere
5 with the redox balance of this organelle, which may lead (genotype-dependent) to increased
6 protein oxidation, decreased ferric reducing ability of plasma and increased oxidative stress.
7
8 Several studies have suggested that advanced oxidation protein products (AOPP), ischemia-
9 modified albumin (IMA), nitric oxide metabolites (NOx), and ferric reducing ability of plasma
10 (FRAP) are associated with chronic noncommunicable diseases in the elderly [10-14].
11
12 However, no studies have been conducted to verify whether there is a difference in the levels
13 of these molecules according to the genotypes of MnSOD Val16Ala gene polymorphism in the
14 elderly. In this context, this paper aims to verify the occurrence of association of the MnSOD
15 Val16Ala gene polymorphism with REDOX biomarkers in the elderly of primary health care.
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29

30 **Materials and Methods**

31 *Design and study sample*

32
33
34
35 A Cross-sectional, observational and descriptive study was performed. This study was
36 conducted with a sample of the elderly population from the Family Health Strategy (*Estratégia*
37 *Saúde da Família - ESF*), primary health care in the city of Porto Alegre. This sample is part of
38 the Epidemiological and Clinical Study of the Elderly from Family Health Strategy of the city
39 of Porto Alegre (EMISUS), developed by a team of health researchers from the Institute of
40 Geriatrics and Gerontology of PUCRS (IGG), described by Gomes, et al. [15]. EMISUS was
41 conducted with elderly people from 30 different Family Health Strategy teams. This study
42 included 270 elderly individuals who had the MnSOD Val16Ala gene polymorphism
43 genotyped. The research was approved by the PUCRS Research Ethics Committee (number of
44 Cep-127/10) and the National Committee for Ethics in Research (CONEP) (number of Cep -
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 127/10). All participants signed the Informed Consent Form. Inclusion criteria for this study
4 were: 60 years of age or older, registered in one of the Family Health Strategy investigated in
5 EMISUS, and having MnSOD Val16Ala gene polymorphism genotyping. Elderly people with
6 any type of cancer, smokers, and autoimmune diseases were excluded from the study.
7
8
9

10 11 12 13 14 *Investigated variables*

15 Sociodemographic data such as age, gender, ethnicity, schooling and family income,
16 health conditions and living habits were collected from the study participants through a
17 structured general questionnaire. REDOX metabolism variables, Advanced Oxidation Protein
18 Products (AOPP), Ischemia-modified Albumin (IMA), Nitric Oxide Metabolites (NOx), and
19 Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) were obtained from blood samples collected after
20 12h of overnight fasting by venipuncture in tubes without anticoagulant. Specimens were
21 centrifuged for 15 min at 2500g and aliquots of serum samples were stored in a freezer at -
22 20°C. Determination of AOPP levels was performed according to Witko-Sarsat et al. [16], on
23 the Cobas MIRA® analyzer (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). IMA was measured by
24 the test based on the evaluation of exogenous cobalt binding to the N-terminal albumin region
25 (ACB test), described by Bar-Or et al. [17]. NOx levels were measured according to the
26 technique described by Tatsch et al. [18], on the Cobas MIRA® analyzer (Roche Diagnostics,
27 Basel, Switzerland). The measurement of FRAP was performed according to the technique
28 described by Benzie et al. [19], on the Cobas MIRA® analyzer (Roche Diagnostics, Basel,
29 Switzerland).
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49

50 The DNA extraction was performed according to the technique described by Debonoy
51 & Nummerger Jr. [20]. Nuclear DNA was obtained from sedimented leukocytes by whole blood
52 centrifugation. The leukocyte nuclear DNA was extracted through the DNA extraction and
53 purification kit, GFX Genomic Blood DNA Purification (Amersham Biosciences, USA) and
54 stored at -20° C for later genotyping.
55
56
57
58
59
60

Manganese-dependent Superoxide Dismutase (MnSOD) Gene Polymorphism Genotyping

Vall16Ala MnSOD Gene Polymorphism was performed by the method of Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP), described by Ambrosone et al. [21]. PCR amplification of the MnSOD gene sequence containing the Vall16Ala polymorphism was performed using 40 pmol of primers, Taq polymerase and dNTPs using reaction buffer, and the MnSOD primers used are: forward GCC CTG GAA CCT CAC ATC AAC and reverse CAA CGC CTC CTG GTA CTT CTC, owns the cycles 1: 95 °C (3 min); Cycle 2: 30 repeats of 95°C (10 s) and 42°C (1 min); Cycle 3: 95°C (1 min); Cycle 4: 42 °C (1 min); Cycle 5: 1°C increments in temperature every 10 s from 42°C to 100°C; Cycle 6: keeping samples at 4°C. The amplified product containing 107pb was visualized by agarose gel electrophoresis 2% stained with Ethidium Bromide. Afterward, genotyping was performed by RFLP, where the amplified product was digested by restriction endonuclease HAEIII (New England, Bio Labs, UK) using 3U at 37 °C for 16h. Digested fragments (93 base pairs for allele A and 87 base pairs for allele V) were visualized by agarose gel electrophoresis 4% stained with Ethidium Bromide. The Hardy-Weinberg equation was applied to verify the equilibrium of allelic and genotypic frequencies.

Statistical treatment

Data were analyzed using the software Statistical Package for the Social Sciences - SPSS version 21.0. The variables were described by absolute and relative frequency and by measures of central tendency (mean and median) and dispersion (standard deviation and interquartile range). Allelic and genotypic frequencies were calculated using the Hardy-Weinberg equation to analyse the genotypic frequency equilibrium ($p^2 + 2pq + q^2$) and allele frequency ($p+q=1$). To compare the means and medians of the markers, according to genotype,

1
2
3 the Student's t-test and the Mann–Whitney U test were applied according to the distribution of
4 the variables, parametric or nonparametric, respectively. The association between categorical
5 variables was verified with Pearson's chi-square test and Fischer's exact test. Analysis with a
6 $P < 0.05$, were considered significant.
7
8
9

10 11 12 13 14 15 **Results**

16
17 A total of 270 elderly individuals with a mean age of 68.6 ± 7.6 years (range 60 to 103
18 years) were evaluated. Mostly female (62.2%), white (65.8%), with two to five years of regular
19 study (67.7%), and income up to two minimum wages (84.0%). More often, the elderly was
20 married (44.4%) (Table 1).
21
22
23

24
25
26
27 [Table 1 here]

28 In the comparison between genders, women presented mean age ($P = 0.005$) and BMI
29 ($P < 0.001$) higher than men. There was no statistically significant difference between genders
30 with marker levels or association with genotypic frequencies (Table 2). In addition, no
31 statistically significant differences were found in age (AV: 69.2 years; VV: 68.0 years; AA:
32 67.6 years) and BMI (AV: 28.5 kg/m²; VV: 27.7 kg/m²; AA: 28.3 kg/m²) among the MnSOD
33 gene polymorphism genotypes ($p > 0.05$).
34
35
36
37
38
39
40
41

42
43 [Table 2 here]

44 The allelic frequencies in the investigated sample were as follows: A=0.54 and V=0.46.
45 The genotypic frequencies were 54.4% (n=147) for AV genotype, 18.5% (n=50) for VV and
46 27.0% (n=73) for AA genotype. Genotypic frequencies are in Hardy-Weinberg equilibrium (χ^2
47 = 2.53; $P = 0.111$), as observed in Figure 1.
48
49
50
51
52
53
54

55
56
57 [Figure 1 here]
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

The results found in the investigated sample suggest that the elderly with AA genotype have more frequently AOPP in Q4 [157,8 μmolL (137,1 μmolL -190,9 μmolL)], while elderly people with VV genotype have AOPP in Q3 [103,6 μmolL (96,8 μmolL -114,0 μmolL)] and this difference was statistically significant ($P=0,023$) (Figure 2). In contrast, the elderly with AA genotype have more often FRAP in Q2 [627,0 μmolL (526,0 μmolL -718,5 μmolL)] and the elderly with VV genotype in Q1 [190,0 μmolL (100,0 μmolL -370,0 μmolL)] ($P=0,027$). No statistically significant association of MnSOD Val16Ala gene polymorphism was found regarding the frequency in each quartile in the other markers evaluated (Figure 2).

[Figure 2 here]

Discussion

This study verified the association of MnSOD Val16Ala gene polymorphism with REDOX biomarkers in the elderly of primary health care. The results suggest that in this sample of elderly there is an association of MnSOD Val16Ala gene polymorphism only when comparing the interquartile ranges of AOPP and FRAP. The elderly with AA genotype is more often distributed in the highest quartile of AOPP. Regarding FRAP, the results show that the elderly with the VV genotype are more often in the lowest quartile of this antioxidant marker. These findings first suggest that the AA genotype may be somehow associated with higher levels of protein oxidation. However, even if the Ala allele accentuates the addressing and transport of MnSOD enzyme into the mitochondria, may somehow compromise or alter the ability of this enzyme to reduce oxidative processes. There are no studies that the enzyme formed by the Ala allele or the AA genotype, by having the β -pleated conformation, in fact is more efficient in dismutating the superoxide anion into hydrogen peroxide and water. The MnSOD catalyzes the dismutation of O_2^- to H_2O_2 , while catalase and glutathione peroxidase subsequently convert H_2O_2 to H_2O , preventing the formation of OH^- . However, evidence

1
2
3 shows that these enzymes decline throughout aging, compromising the balance between ROS
4 production and antioxidant defenses, consequently leading to greater oxidative damage [1-4].
5
6 As MnSOD is the first enzyme in the antioxidant defense line, changes in its function may
7 undermine the entire defense system against ROS, since other enzymes act on substrates of
8 SOD reactions [22]. The AOPP is generated from the action of oxidative stress on proteins and
9 amino acids [23]. They are produced by myeloperoxidase released by activated neutrophils, in
10 the event of imbalance in antioxidant mechanisms, such as enzymes with inadequate actions,
11 auto-oxidation and by accumulations of metabolites that were not properly eliminated by
12 phagocytes [24]. In this sense, H_2O_2 is an intermediate byproduct and substrate for the NADPH
13 system, where the end product of this reaction is converted into potent hypochlorous acid
14 (HOCL), which also causes the formation of AOPP [25]. AOPP is known to be a tyrosine group
15 used as a marker to assess the level of protein oxidation and includes crosslinked protein
16 products, characterized by the more rigid structure due to the cross-linking of linear and
17 covalent polymer chains [23,26,27]. High levels are found in patients with pathologies
18 characterized by high levels of ROS production, such as diabetes, diabetic nephropathy and
19 retinopathy, Alzheimer's disease and AIDS, and also proposed as pathogenic mediators of
20 various complications, as well as an early marker for several pathological conditions [23,24].
21
22

23
24
25 Besides, our results also showed that the elderly with the MnSOD VV genotype are
26 more frequently distributed in the lower FRAP quartile, suggesting that their ferric reducing
27 ability of plasma is lower compared to other genotypes. This finding also meets what Sutton et
28 al. [8] and Rosenblum et al. [9] demonstrated in their studies, suggesting that the Val variant is
29 less efficient in addressing and transporting mitochondrial SOD in humans. These studies
30 showed that the Ala-MnSOD/mitochondrial segmentation sequence allows efficient MnSOD
31 importation into the mitochondrial matrix, while the Val variant causes precursor partial arrest
32 within the inner membrane and decreased the formation of the active tetramer MnSOD in the
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

mitochondrial matrix. Thus, it cannot only reduce the total antioxidant capacity of the elderly but also the dismutation of O₂⁻ triggering oxidative stress. Iron is required for oxygen transport, respiration and activity of many enzymes, and plays an important role in lipid and protein oxidation. Therefore, individuals with the VV genotype may be more susceptible to iron-mediated oxidative damage. Some studies have shown that in individuals with diabetes and cardiovascular complications, FRAP values are reduced [28]. However, paradoxical results are also found regarding FRAP, such as the study by Gawlik et al. [29]. In this study, the authors found significantly higher levels of FRAP, uric acid, C-reactive protein, and γ -Glutamyltransferase in patients with diabetes. However, no statistically significant differences in antioxidant defense markers were observed between patients with and without chronic diabetes complications. Fasting serum glucose correlated with plasma glutathione peroxidase and glutathione reductase in hemolysis, FRAP and HbA1c correlated with serum γ -Glutamyltransferase. Only FRAP and serum uric acid were significantly higher in obese diabetes patients than in nonobese diabetic patients. The authors of this study postulate that even if some components of antioxidant defense are increased in diabetic patients, this system seems to be ineffective, since the reduced erythrocyte glutathione content was also observed. Although increased, the entire antioxidant defense system cannot compensate for a marked production of ROS in diabetes, which results in oxidative stress. A study conducted by Kavitha et al. [30] showed that MDA levels were increased and FRAP levels were decreased in patients with diabetic nephropathy [30]. Pulido et al. [31] observed in their study that elderly with Alzheimer's disease and carriers of the e4 allele had lower levels of FRAP. Pascotini's study [32] suggests that the VV genotype may influence increased oxidative stress, resulting in increased apoptotic markers in patients with chronic stroke. Individuals with this genotype could be more likely to have a new episode of stroke. According to the same study, these clinical

1
2
3 changes, such as brain damage, may be caused by oxidative stress due to the failure of the
4 MnSOD enzyme [32].
5

6
7
8 These different results suggest that Val6Ala polymorphism may modulate REDOX
9 balance and interfere with AOPP and FRAP levels. Different studies have suggested that both
10 markers are associated with noncommunicable chronic diseases in the elderly [33]. Therefore,
11 while Val6Ala polymorphism is an individual and insurmountable biological trait, it is still
12 possible to use alternative exogenous measures such as diet and physical activity to adjust the
13 REDOX imbalance caused by Val6Ala.
14
15
16
17
18
19
20

21 This study presents some limitations, such as its cross-sectional design, lack of
22 information about lifestyle (diet and physical activity), as well as the presence of morbidities
23 and medication use. However, despite its limitations, this is the first study to show the
24 association of Val6Ala polymorphism with the interquartile ranges of AOPP and FRAP in
25 Brazilian elderly in primary health care, opening new perspectives for future investigations,
26 prevention and management of NCDs in the elderly.
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36

37 Conclusion

38
39 The results of this study suggest that the elderly with AA genotype are more often
40 distributed in the largest AOPP quartile and those with VV genotype in the lowest FRAP
41 quartile. These findings suggest the modulating role of the Val6Ala polymorphism, both
42 protein oxidation and ferric reducing ability of plasma, which may be involved in the genesis
43 of chronic noncommunicable diseases in the elderly.
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Acknowledgments

This study was financed in part by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001*. And PNPd/CAPES: 2785/09-9) and *Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul- FAPERGS (10/0200-7, 0760/12-6)*.

Declaration of Interest Statement

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

References

- [1] Harman D. The free radical theory of aging. *Antioxid Redox Signal*. 2003;5(5):557-61.
- [2] Hekimi S, Lapointe J, Wen Y. Taking a "good" look at free radicals in the aging process. *Trends Cell Biol*. 2011;21(10):569-76.
- [3] Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev*. 2002;82:47-95.
- [4] Wong HS, Dighe PA, Mezera V, et al. Production of superoxide and hydrogen peroxide from specific mitochondrial sites under different bioenergetic conditions. *J Biol Chem*. 2017;292(41):16804-9.
- [5] Falone S, Santini S, Jr., Cordone V, et al. Regular and Moderate Exercise Counteracts the Decline of Antioxidant Protection but Not Methylglyoxal-Dependent Glycative Burden in the Ovary of Reproductively Aging Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3837623.
- [6] Kendall DM, Harmel AP. The metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease: understanding the role of insulin resistance. *Am J Manag Care*. 2002;8(20 Suppl):S635-53; quiz S54-7.

- [7] Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med.* 2002;33(3):337-49.
- [8] Sutton A, Khoury H, Prip-Buus C, et al. The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics.* 2003;13(3):145-57.
- [9] Rosenblum JS, Gilula NB, Lerner RA. On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(9):4471-3.
- [10] Muller GC, Gottlieb MG, Luz Correa B, et al. The inverted CD4:CD8 ratio is associated with gender-related changes in oxidative stress during aging. *Cell Immunol.* 2015;296(2):149-54.
- [11] Nogueira GM, Schwanke CH, Closs VE, et al. Inflammation, Oxidation, Caloric Expenditure and Cognitive Impairment in Brazilian Elderly Assisted at Primary Care. *Curr Alzheimer Res.* 2016;13(9):1056-63.
- [12] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996;49(5):1304-13.
- [13] Valle Gottlieb MG, da Cruz IBM, Duarte MMF, et al. Associations among Metabolic Syndrome, Ischemia, Inflammatory, Oxidatives, and Lipids Biomarkers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(2):586-91.
- [14] Ghasemi A, Zahediasl S, Azizi F. Reference values for serum nitric oxide metabolites in an adult population. *Clin Biochem.* 2010;43(1-2):89-94.
- [15] Gomes I, Nogueira EL, Engroff P, et al. The multidimensional study of the elderly in the family health strategy in Porto Alegre, Brazil (EMI-SUS). *Pan Am J Aging Res.* 2013;1(1):20-4.

- 1
2
3 [16] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, et al. Advanced oxidation protein
4 products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure
5
6 *J Immunol.* 1998;161(5):2524-32.
7
8 [17] Bar-Or D, Curtis G, Rao N, et al. Characterization of the Co(2+) and Ni(2+) binding
9 amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. An insight into the mechanism of a
10 new assay for myocardial ischemia. *Eur J Biochem.* 2001;268(1):42-7.
11
12 [18] Tatsch E, Bochi GV, Pereira R da S, et al. A simple and inexpensive automated
13 technique for measurement of serum nitrite/nitrate. *Clin Biochem.* 2011;44(4):348-50.
14
15 [19] Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of
16 "antioxidant power": then FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996;239:70-6.
17
18 [20] Debomoy LK, Nurnberger JL, Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of
19 HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991;19(19):5444.
20
21 [21] Ambrosone CB, Freudenheim JL, Thompson PA, et al. Manganese superoxide
22 dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer.
23 *Cancer Res.* 1999;59(3):602-6.
24
25 [22] Carter JD, Madamanchi NR, Stouffer GA, et al. Ultrafine particulate matter exposure
26 impairs vasorelaxant response in superoxide dismutase 2-deficient murine aortic rings. *J*
27 *Toxicol Environ Health A.* 2018;81(5):106-15.
28
29 [23] Kalousova M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced
30 oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiol Res.* 2002;51:597-604.
31
32 [24] Braga CYY. Avaliação da concentração plasmática do Produto Protéico de Oxidação
33 Avançada (AOPP) e da Proteína C - Reativa de Alta Sensibilidade (hs - PCR) em pacientes
34 com doença reumática valvar crônica [dissertação]. Paraná (PR): Universidade Federal do
35 Paraná; 2013.
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 [25] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal
4 physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
5
6
7 [26] Pandey KB, Rizvi SI. Resveratrol May Protect Plasma Proteins from Oxidation under
8 Conditions of Oxidative stress In Vitro. *J Braz Chem Soc.* 2010;21(5):909-13.
9
10
11
12 [27] Piwowar A, Knapik-Kordecka M, Warwas M. AOPP and its relations with selected
13 markers of oxidative/antioxidative system in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin*
14 *Pract.* 2007;77(2):188-92.
15
16
17
18 [28] Ćolak E, Dimitrijević-Srećković V, Stanković S, et al. Biomarkers of enzymatic and
19 non-enzymatic antioxidative defense in type 2 diabetes mellitus - comparative analysis.
20 *Biochem Med.* 2008;18(1).
21
22
23
24 [29] Gawlik K, Naskalski JW, Fedak D, et al. Markers of Antioxidant Defense in Patients
25 with Type 2 Diabetes. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:6.
26
27
28
29 [30] Kavitha G, Ramani G, Dhass PK, et al. Oxidative stress, interleukin (IL-6) and
30 atherogenic index of plasma in diabetic nephropathy. *Int J Appl Biol Pharm.* 2011. 211-6 p.
31
32
33 [31] Pulido R, Jimenez-Escrig A, Orensanz L, et al. Study of plasma antioxidant status in
34 Alzheimer's disease. *Eur J Neurol.* 2005;12(7):531-5.
35
36
37
38 [32] Pascotini ET. A função da MnSOD Alal6Val, O stress oxidativo e marcadores de
39 apoptose como biomarcadores em pacientes com Acidente Vascular Encefálico Crônico.
40 *Anais do 13 Congresso Gaúcho de Clínica Médica. Blucher Medical Proceedings.*
41 2016;7(2):77-83.
42
43
44
45 [33] Ungurianu A, Margină D, Grădinaru D, et al. Lipoprotein redox status evaluation as a
46 marker of cardiovascular disease risk in patients with inflammatory disease. *Mol Med Rep.*
47 2017;15(1):256-62.
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

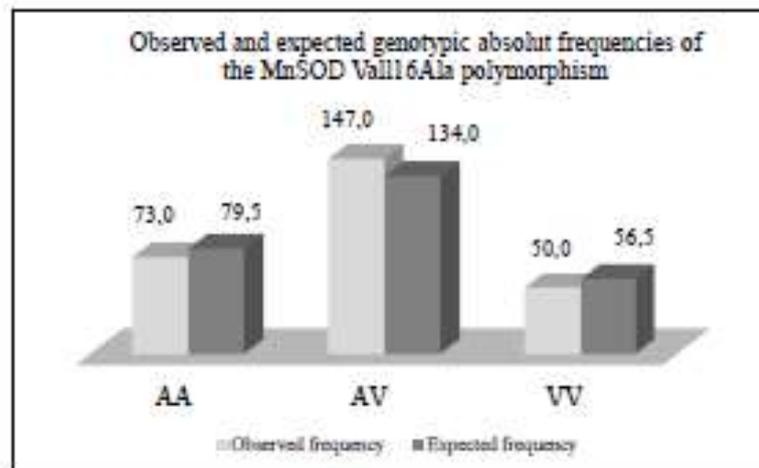


Figure 1. Absolute genotypic frequencies of the MnSOD Val16Ala gene polymorphism of the elderly from the Family Health Strategy, Porto Alegre - RS, from March 2011 to December 2012 (N=270).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

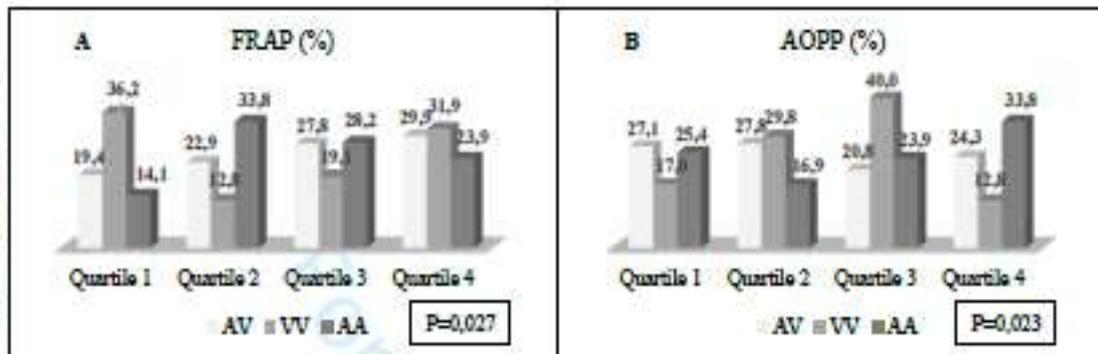


Figure 2. Distribution of quartiles frequency of FRAP (A) and AOPP (B) between genotypes of the MnSOD Val16Ala gene polymorphism of the elderly from the Family Health Strategy of Porto Alegre - RS, from March 2011 to December 2012(N=262).

Pearson's chi-square test

Table 1. Sociodemographic data of the sample of elderly in the study, from the Family Health Strategy, Porto Alegre - RS, from March 2011 to December 2012 (N=270).

Variables	N (%)
Gender	
Male	102 (37,8)
Female	168 (62,2)
Ethnicity	
White	175 (65,8)
Black	46 (17,3)
Paria	40 (15,0)
Indigenous	5 (1,9)
Marital Status	
Not married	42 (15,7)
Married	119 (44,4)
Divorced	43 (16,0)
Widower	64 (23,9)
Schooling	
Up to 1 year of study	17 (7,8)
2 to 5 years of study	148 (67,9)
More than 5 years of study	53 (24,3)
Monthly Income	
No income	24 (9,3)
Up to 2 minimum wages	216 (84,0)
More than 2 minimum wages	17 (6,6)

Minimum Wage = R\$ 540,00 (= US\$270).

Note: The missing data were four for ethnicity, two for marital status, 52 for education and 13 for income.

Table 2. Comparison of age, body mass index, oxidative markers and frequency of Al¹⁶Val polymorphism genotypes of the Manganese-dependent Superoxide Dismutase (MnSOD) gene between genders of the elderly in the study sample, from the Family Health Strategy, Porto Alegre - RS, from March 2011 to December 2012 (N = 270)

Variables	Sample Total	GENDER		P
		Men (N=102)	Women (N=168)	
Age (years)	68,6±7,6	67,0±6,7	69,5±8,0	0,005 ^a
BMI (kg/m ²)	28,31±5,66	26,67±4,02	29,32±6,27	<0,001 ^a
AOPP (µmol/L)	89,3 (73,5-117,9)	88,6 (73,6-118,3)	89,7 (73,1-117,0)	0,879 ^b
Q1	60,1 (53,7-68,2)	61,7 (57,8-68,1)	59,6 (48,2-68,5)	-
Q2	82,4 (77,0-86,1)	83,1 (78,7-86,5)	80,6 (76,6-85,5)	-
Q3	102,5 (96,0-112,1)	102,8 (96,6-108,9)	100,0 (94,2-113,0)	-
Q4	158,4 (136,1-206,2)	144,0 (131,9-183,9)	174,1 (141,4-254,2)	-
NOx (µmol/L)	86,3 (49,8-148,0)	92,1 (54,2-184,1)	83,8 (47,1-140,2)	0,204 ^b
Q1	26,6 (20,0-39,9)	35,3 (20,0-40,9)	24,3 (20,0-39,3)	-
Q2	66,4 (57,0-76,6)	64,2 (56,1-71,9)	67,2 (58,6-77,8)	-
Q3	99,7 (93,7-119,6)	113,4 (96,1-120,5)	97,7 (92,5-113,5)	-
Q4	237,5 (183,0-366,0)	237,3 (198,6-306,7)	266,3 (175,4-580,1)	-
IMA (ABSU)	0,60±0,15	0,62±0,15	0,60±0,14	0,390 ^b
Q1	0,41 (0,37-0,46)	0,40 (0,36-0,45)	0,41 (0,37-0,47)	-
Q2	0,56 (0,54-0,59)	0,56 (0,52-0,59)	0,57 (0,54-0,59)	-
Q3	0,66 (0,64-0,68)	0,66 (0,64-0,68)	0,66 (0,64-0,68)	-
Q4	0,77 (0,74-0,82)	0,77 (0,75-0,83)	0,77 (0,73-0,81)	-
FRAP (µmol/L)	787,0 (486,3-1191,0)	844,0 (508,3-1211,5)	730,0 (442,5-1181,0)	0,277 ^b

1					
2					
3	Q1	299,0 (100,0-399,0)	260,0 (106,8-367,5)	304,0 (100,0-424,5)	-
4					
5	Q2	636,0 (534,0-712,0)	638,0 (526,0-738,0)	625,0 (539,0-705,5)	-
6					
7	Q3	978,0 (886,0-1096,0)	984,5 (879,5-1127,5)	976,0 (891,0-1075,0)	-
8					
9	Q4	1668,0 (1362,0-2451,0)	1581,0 (1358,0-2034,0)	1733,0 (1364,5-2813,0)	-
10					
11					
12	MDA (μmolL)				
13					
14	Q1	1,09 (0,89-1,22)	1,14 (0,96-1,24)	1,08 (0,81-1,15)	-
15					
16	Q2	1,44 (1,32-1,52)	1,37 (1,33-1,49)	1,45 (1,29-1,54)	-
17					
18	Q3	1,76 (1,65-1,88)	1,75 (1,64-1,90)	1,77 (1,65-1,86)	-
19					
20	Q4	2,14 (2,00-2,29)	2,19 (1,96-2,27)	2,07 (2,01-2,32)	-
21					
22					
23					
24	Genotypes				
25					
26	AA	73 (27,0)	33 (32,4)	40 (23,8)	
27					
28	AV	147 (54,4)	50 (49,0)	97 (57,7)	0,272 ^c
29					
30	VV	50 (18,5)	19 (18,6)	31 (18,5)	
31					
32					

a: Student's t-test; b: Mann-Whitney U test; c: Pearson's chi-square test. Data are presented as mean \pm standard deviation, median and interquartile range and absolute and relative frequency.

ABSU= absorbance unit; Q1= quartile 25; Q2= quartile 50; Q3= quartile 75; Q4= quartile 100; BMI: Body Mass Index; AOPP: Advanced Oxidation Protein Products; NOx: Nitric Oxide Metabolites; IMA: Ischemia-modified Albumin; FRAP: Ferric Reducing Ability of Plasma; MDA: Malondialdehyde.

Note: Missing data were: 26 for BMI, 8 for AOPP and FRAP, 31 for NOx, 41 for IMA and 192 for MDA.

7 ARTIGO 2

DOI:10.1500/1414-462X201900010270

cadernos
Saúde ColetivaISSN 1414-462X (Print)
ISSN 2358-291X (Online)Associação do tabagismo com biomarcadores
REDOX e fatores de risco cardiometabólicos
em idososAssociation of smoking with redox biomarkers and
cardiometabolic risk factors in elder individualsCamila Bittencourt Jacondino¹ ●, Carla Helena Augustin Schwanke¹ ●,
Vera Elizabeth Closs¹ ●, Irênio Gomes¹ ●, Cristiane Alves Borges¹ ●,
Maria Gabriela Valle Gottlieb¹ ●

Resumo

Introdução: O tabagismo constitui a principal causa de morte evitável no mundo e é considerado um importante fator de risco para as doenças cardiovasculares (DCV). **Objetivo:** Verificar a associação do tabagismo com sexo, metabolismo redox e fatores de risco cardiometabólicos de 381 idosos da Estratégia Saúde da Família de Porto Alegre/RS. **Método:** Para categorizar o tabagismo, seguiram-se as recomendações do Center of Diseases Control (CDC). Os marcadores de estresse oxidativo investigados foram: produtos avançados da oxidação proteica (AOPP), metabólitos do óxido nítrico (NO_x), capacidade antioxidante medida por meio do ensaio ferro-reducing ability of plasma (FRAP). Fatores de risco cardiometabólicos também foram avaliados. **Resultados:** Em relação ao sexo/fumo, foram mais frequentes as mulheres não fumantes ($P = 0,001$). Os homens ex-tabagistas apresentaram maiores concentrações de FRAP ($P = 0,001$), e os tabagistas, maior concentração de NO_x (0,012), menores médias de circunferência de cintura-CC ($P = 0,017$) e de índice de massa corporal-IMC ($P = 0,003$) e maior HDL-c ($P = 0,003$). Não foram verificados resultados significativos entre as mulheres. **Conclusão:** Os idosos do sexo masculino tabagistas apresentaram menores valores de CC, IMC e HDL-c, porém os tabagistas apresentaram aumento da concentração de NO_x, o qual é um biomarcador de estresse oxidativo associado a doenças cardiovasculares. Portanto, é preciso destacar a importância na prevenção e adesão à cessação de tabagismo para evitar comorbidades cardiovasculares.

Palavras-chave: envelhecimento; tabagismo; estratégia saúde da família; estresse oxidativo; sexo.

Abstract

Background: Smoking is the leading cause of preventable death worldwide, and is considered an important risk factor for cardiovascular disease (CVD). **Objective:** To investigate the association of smoking with sex, redox metabolism and cardiometabolic risk factors of 381 elderly from the Family Health Strategy of Porto Alegre. **Method:** To categorize smoking, followed by the recommendations of the Center for Disease Control (CDC). We studied the following oxidative stress markers investigated: advanced products of protein oxidation (AOPP), nitric oxide metabolites (NO_x), the antioxidant capacity was measured by Ferro Reducing Ability of Plasma (FRAP). Cardiometabolic risk factors were also evaluated. **Results:** Regarding sex/smoking, women are more often non-smokers ($P = 0.001$). Former male smokers had higher concentrations of FRAP ($P = 0.001$), and smokers had higher concentration of NO_x (0.012), lower average waist circumference-WC ($P = 0.017$), body mass index-BMI ($P = 0.003$) and increased

¹Programa de Pós-graduação em Gerontologia Biomédica, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) - Porto Alegre (RS), Brasil.

Trabalho realizado no Programa de Gerontologia Biomédica, Escola de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) - Porto Alegre (RS), Brasil.

Endereço para correspondência: Maria Gabriela Valle Gottlieb - Programa de Pós-graduação em Gerontologia Biomédica, Escola de Medicina, Pontifícia

Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Avenida Ipiranga, 66281, Prédio 91, 7º andar, Sala 703 - CEP: 91509-900 - Porto Alegre (RS), Brasil -

E-mail: maria.gottlieb@pucrs.br

Fonte de financiamento: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e pelo Programa Nacional de Pós-Graduação da CAPES (PNDP/CAPES: 2735/06-0).

Conflito de interesse: nada a declarar.



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Attribution, que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o trabalho original seja corretamente citado.

HDL-c levels ($P = 0.003$). There were found significant results among women. Conclusion: The elderly male smokers presented lower values of WC, BMI and HDL-c, but smokers presented increased NO_2 concentration, which is a oxidative stress biomarker associated with cardiovascular diseases. Therefore, it is important to emphasize the importance in preventing and adhering to smoking cessation to avoid cardiovascular comorbidities.

Keywords: aging; smoking; family health strategy; oxidative stress; sex.

INTRODUÇÃO

O tabagismo é um dos principais fatores de risco cardiovascular modificáveis. Conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 1,2 bilhão de pessoas no mundo possuem o hábito de fumar, e, no Brasil, em torno de 28 milhões são fumantes¹. Além disso, aproximadamente 10 mil óbitos por dia são resultados do tabagismo. Assim, as projeções indicam que, em 2030, pelo menos 10 milhões de indivíduos serão acometidos por patologias associadas ao fumo².

A prevalência de tabagismo começa a declinar com o envelhecimento, permanecendo em torno de 22% para os homens e 7% para as mulheres³. O hábito de fumar entre idosos está associado ao maior risco de mortalidade e morbidade por cardiopatias, acidente vascular encefálico, doenças respiratórias e determinadas neoplasias⁴. Ressalta-se que, com a elevada prevalência de doenças crônicas, torna-se necessária a cessação do hábito tabágico nessa faixa etária, tendo em vista que a interrupção do fumo promove o aumento de dois a três anos na expectativa de vida naqueles que fumavam até um maço de cigarros por dia^{5,6}.

Estudos^{7,8} têm mostrado que o hábito de fumar aumenta a concentração de alguns marcadores de estresse oxidativo, como os metabólitos do óxido nítrico (NO_2) e os produtos avançados da oxidação proteica (AOPP)⁹. Esses biomarcadores implicam não somente a disfunção endotelial, mas, principalmente, o processo de envelhecimento patológico e a mortalidade^{8,10}.

Adicionalmente, a literatura também tem mostrado uma ligação entre o tabagismo e a redução de apetite, com consequente diminuição no índice de massa corporal^{11,12}. Contudo, a relação entre o consumo de cigarros e as medidas antropométricas permanece em discussão, considerando que o hábito de fumar é altamente nocivo e tóxico ao organismo.

Diante desse cenário, o artigo tem como objetivo verificar a associação do tabagismo com sexo, biomarcadores REDOX e fatores de risco cardiometabólicos em idosos da Estratégia da Saúde da Família, de Porto Alegre/RS.

MÉTODO

Delineamento

Estudo transversal, descritivo e analítico.

População e amostra

O presente estudo envolveu 381 idosos, participantes da pesquisa denominada *Estudo Epidemiológico e Clínico dos Idosos Atendidos pela Estratégia de Saúde da Família (EMI-SUS)*¹³

do município de Porto Alegre, desenvolvida por pesquisadores do Instituto de Geriatria e Gerontologia e do Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), em parceria com a Secretaria de Saúde do município. O estudo foi executado no período de janeiro de 2011 a dezembro de 2012 por uma equipe multidisciplinar que envolveu agentes comunitários, enfermeiros, geriatras, neurologistas, psiquiatras, psicólogos, educadores físicos, nutricionistas, fisioterapeutas e farmacêuticos. Foram incluídos indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos, atendidos na ESE Idosos acamados foram excluídos do estudo.

Variáveis investigadas e instrumentos de coleta utilizados

Tabagismo

Com relação ao status tabágico, os participantes do estudo responderam a um questionário, elaborado pelos pesquisadores responsáveis, sobre dados de estilo de vida, com perguntas sobre o hábito de fumar e o número de cigarros consumidos por dia. Para definir a condição do tabagismo, foram seguidas as recomendações do *Center of Diseases Control*¹⁴ (CDC) dos Estados Unidos, sendo categorizados: como tabagistas os indivíduos que fumaram pelo menos 100 cigarros ao longo da vida e que eram fumantes no momento do estudo; não tabagistas aqueles que nunca haviam fumado ou que fumaram menos de 100 cigarros durante a vida; e ex-tabagistas os participantes que haviam fumado mais de 100 cigarros, mas que não eram fumantes na época do estudo.

Variáveis bioquímicas, marcadores inflamatórios, de estresse oxidativo e de capacidade antioxidante

Foram analisados os níveis séricos de Colesterol total, HDL-colesterol (HDL-c), LDL-colesterol (LDL-c), triglicédeos, glicose e insulina; marcadores inflamatórios: interleucina-6 (IL-6); proteína C reativa (PCR-c); dois marcadores oxidativos: produtos avançados da oxidação proteica (AOPP) e metabólitos do óxido Nítrico (NO_2); e variável de habilidade plasmática de redução férrica (FRAP).

Para obtenção dos valores glicêmicos, foi utilizado o kit de glicose PAP Liquiform, marca Labest, por reação de ponto final, por meio da metodologia GOD-Trinder. Para a determinação dos triglicédeos, colesterol e HDL-c, foi utilizado o kit Liquiform, marca Labest, por reação de ponto final, por meio da metodologia Enzimática-Trinder. E os níveis de LDL-c foram obtidos por intermédio da equação de Friedewald¹⁵. Para determinação dos

níveis de insulina, IL-6 e PCR-us, foi realizado o método de quimioluminescência, de acordo com as instruções do fabricante (IMMULITE® / IMMULITE®). Os AOPP foram quantificados no equipamento de Cobas Mira® (Roche Diagnostics, Basileia, Suíça), de acordo com o método descrito por Hanasand et al.²⁴. O resultado foi calculado pela curva padrão mol/L, sendo determinado como o equivalente de cloramina. Os NO₂ foram mensurados de acordo com o método padronizado por Tatsch et al.¹⁷ Já para avaliar a capacidade antioxidante, o método utilizado para dosar a FRAP foi descrito por Benzie et al.²⁵, utilizando o equipamento de Cobas Mira® (Roche Diagnostics, Basileia, Suíça).

A resistência à insulina foi determinada utilizando o modelo matemático chamado de "homeostase Assessment Model" (HOMA), em que a resistência é determinada pela seguinte fórmula (1):

$$HOMA-IR = \text{glucose (mmol)} \times \text{insulina (\mu U / mL)} / 22,9 \quad (1)$$

sendo que o valor acima de 2,71 é considerado insulina resistente^{26,28}.

Variáveis antropométricas

As medidas antropométricas foram coletadas por uma equipe de nutricionistas treinada e certificada pela *International Society for the Advancement of Kinanthropometry*²¹. O peso e a altura foram avaliados em uma plataforma Filizola®, com os participantes vestindo um avental hospitalar, descalços, posicionados no centro da balança com os braços estendidos ao longo do corpo e em posição ereta. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado a partir das medidas de peso e altura utilizando o índice de Quetelet²² $\left(IMC = \left(\frac{\text{peso}}{\text{altura}^2} \right) \right)$, sendo os pontos de corte de Lipschitz²³ para magreza e sobrepeso, respectivamente, IMC abaixo de 22 kg/m² e acima de 27 kg/m².

A circunferência abdominal foi aferida com fita métrica inelástica no ponto médio entre o rebordo costal e a crista ilíaca, com o indivíduo em posição ortostática, e obedecendo os pontos de corte ≥ 102 cm para os homens e ≥ 88 cm para as mulheres, conforme a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica²⁴.

Pressão arterial

Os níveis pressóricos foram obtidos com um esfigmomanômetro aneróide devidamente calibrado e estetoscópio, com paciente sentado em uma cadeira, com as costas apoiadas, sendo conferidas as informações referentes à não realização de esforço físico, fumo ou ingestão de cafeína durante 1 hora antes da aferição da pressão arterial²⁹.

Doenças cardiometabólicas

A hipertensão arterial, o diabetes mellitus e os eventos cardiovasculares (angina instável e infarto agudo do miocárdio) foram obtidos por meio do autorrelato dos idosos, sendo

confirmados pela receita, pelo prontuário médico, pelos exames de glicemia e pelo perfil lipídico. Já a obesidade foi classificada por intermédio do resultado do cálculo do índice de massa corporal.

Logística do estudo

Para a realização do estudo, foi recrutada uma amostra de idosos por meio de sorteio de 30 equipes da Estratégia Saúde da Família (ESF) do município de Porto Alegre. Inicialmente, foi aplicado um questionário com perguntas socio demográficas, de hábitos de vida e de uso de medicamentos, nas residências de 36 idosos sorteados aleatoriamente de cada uma das 30 equipes da ESF, pelos agentes comunitários de saúde, previamente treinados. Após essa primeira etapa, os idosos foram chamados para a coleta de sangue nas unidades básicas de saúde próximas à sua residência e depois eram encaminhados para a avaliação por uma equipe multidisciplinar nas dependências do Hospital São Lucas da PUC-RS, onde foram investigados parâmetros antropométricos, de capacidade funcional e neuropsiquiátricos.

Análise estatística

O tamanho amostral foi calculado pelo programa PEPI do pacote estatístico DOS, versão 4, utilizando um nível de significância de 0,05. A amostra mínima dos idosos foi definida com base em uma população de 22 mil idosos usuários da ESF da cidade de Porto Alegre, no Sul do Brasil.

O banco de dados foi estruturado em planilha Excel em digitação dupla, e a análise estatística, realizada no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 17.0. Na fase descritiva, as variáveis quantitativas foram analisadas por média e desvio-padrão. Na fase analítica, foram utilizados o teste T de Student e a análise de variâncias ANOVA, para as variáveis contínuas, e os testes qui-quadrado de Pearson e Exato de Fisher, para as variáveis categóricas. Foram considerados significativos os valores de $P < 0,05$.

Aspectos éticos

O projeto EMI-SUS, do qual faz parte o estudo, foi apreciado e aprovado pelo CEP da PUC-RS (protocolo nº 10/04967) e da Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre (registro nº 499 e processo nº 001.021434.10.7). Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

RESULTADOS

A amostra foi composta por 381 idosos, com média de idade de $68,0 \pm 6,6$ anos (intervalo de 60 a 95 anos), e a maioria era do sexo feminino (60,9%). As características gerais da amostra, segundo o gênero, estão descritas na Tabela 1.

A frequência de tabagismo entre os idosos foi de 30,4%, e 19,7% deles foram considerados ex-tabagistas. A média

Tabela 1. Características gerais dos idosos atendidos na Estratégia Saúde da Família de Porto Alegre/RS (n = 381)

Variáveis	N	Amostra total	Homens	Mulheres	P
Idade em anos (média ± DP)	381	68,0 ± 6,6	68,1 ± 7,2	68,0 ± 6,1	0,871 ^a
Tabagismo n (%)					
Não tabagistas		190 (49,9)	57 (38,3)	133 (57,3)	
Ex-tabagistas		75 (19,7)	40 (26,8)	35 (15,1)	0,001 ^a
Tabagistas		116 (30,4)	52 (34,9)	64 (27,6)	
Número cigarros/dia (média ± DP)	112	18,0 ± 13,0	19,1 ± 15,8	17,1 ± 10,2	0,438 ^a
Cessação tabagismo em anos	71	18,3 ± 13,1	18,5 ± 12,3	18,0 ± 14,2	0,875 ^a
Marcadores bioquímicos, inflamatórios e oxidativos (média ± DP)					
NO _x (µmol/L)	286	147,9 ± 180,7	138,8 ± 129,7	153,7 ± 207,1	0,456 ^a
AOPP (µmol/L)	298	112,4 ± 119,6	115,8 ± 155,0	110,2 ± 90,1	0,698 ^a
FRAP (µmol/L)	296	1041,5 ± 1014,5	1008,0 ± 895,6	1063,4 ± 1087,1	0,647 ^a
Interleucina-6 (pg/mL)	251	4,0 ± 10,4	4,5 ± 14,6	3,6 ± 5,5	0,516 ^a
PCR-us	251	0,42 ± 0,61	0,32 ± 0,16	0,49 ± 0,89	0,165 ^a
Glicose (mg/dl)	372	121,1 ± 49,0	123,5 ± 53,3	119,6 ± 46,0	0,460 ^a
Insulina (µIU/mL)	158	5,87 ± 11,44	4,7 ± 7,0	6,8 ± 13,9	0,278 ^a
Homa-IR	156	1,21 ± 2,55	1,5 ± 2,2	1,7 ± 2,8	0,684 ^a
Coletorol (mg/dl)	370	191,7 ± 46,2	189,1 ± 48,3	193,4 ± 44,8	0,384 ^a
LDL-c (mg/dl)	371	111,3 ± 39,6	110,7 ± 37,6	111,8 ± 40,9	0,703 ^a
Triglicérides (mg/dl)	371	149,9 ± 98,3	155,6 ± 134,8	146,3 ± 65,1	0,371 ^a
HDL-c (mg/dl)	372	51,2 ± 13,3	48,7 ± 13,7	52,9 ± 12,7	0,003 ^a
Médidas antropométricas (média ± DP)					
Índice de massa corporal (kg/m ²)	374	27,9 ± 5,5	26,9 ± 4,5	28,6 ± 5,9	0,002 ^a
Circunferência da cintura (cm)	371	95,8 ± 11,6	95,8 ± 9,6	95,8 ± 12,8	0,993 ^a
Pressão arterial (mmHg) (média ± DP)					
Sistólica	377	135,2 ± 19,4	138,0 ± 20,4	133,4 ± 18,4	0,023 ^a
Diastólica	377	83,5 ± 11,2	85,1 ± 11,6	82,4 ± 10,8	0,017 ^a
Doenças cardiometabólicas n (%)					
Diabetes mellitus	377	99 (26,3)	41 (27,5)	58 (25,3)	0,609 ^a
Hipertensão arterial	378	262 (69,3)	97 (65,1)	165 (72,1)	0,152 ^a
Evento cardiovascular	378	59 (15,6)	20 (13,6)	39 (16,9)	0,392 ^a
Obesidade central	370	189 (51,1)	33 (22,4)	156 (70,0)	<0,001 ^a
Obesidade geral	374	183 (48,9)	63 (43,2)	120 (52,6)	0,074 ^a

^ateste T de Student; ^bteste qui-quadrado de Pearson; DP = desvio padrão; NO_x = óxido nítrico; AOPP = produto avançado da oxidação proteica; FRAP = ferric reducing ability of plasma; PCR-us = proteína C reativa

do número de cigarros/dia fumados e do tempo (anos) em que cessaram o tabagismo foi 18,0 ± 13,0 e 18,3 ± 13,1 anos, respectivamente. Em referência ao gênero, constatou-se com mais frequência mulheres não fumantes (57,3%) em comparação aos homens (38,3%) ($P = 0,001$). Os indivíduos do sexo feminino apresentaram níveis mais elevados de HDL-c ($P = 0,003$) e IMC (0,002), enquanto, entre os idosos do sexo masculino, a medida da pressão arterial (PA) mostrou-se mais elevada, tanto para PA sistólica ($P = 0,023$) como para a PA diastólica ($P = 0,017$). Hipertensão arterial e obesidade central foram as doenças cardiometabólicas mais frequentes, com 69,3% e 51,1%, respectivamente. No que concerne aos valores dos marcadores de estresse oxidativo entre os grupos, segundo o gênero, verificou-se que os homens não tabagistas mostraram significativamente menores médias de NO_x em relação aos que cessaram o tabagismo e aos tabagistas atuais ($P = 0,012$). Quanto ao FRAP,

os idosos ex-tabagistas do sexo masculino exibiram maiores níveis séricos em comparação aos outros grupos ($P = 0,001$). Em se tratando das variáveis antropométricas, observou-se que os tabagistas apresentaram significativamente menor média de circunferência da cintura ($P = 0,017$) e menor IMC ($P = 0,003$). Entre os grupos das mulheres não se constataram diferenças estatisticamente relevantes (Tabela 2).

DISCUSSÃO

A literatura tem mostrado um vasto corpo de evidências sobre os danos que o hábito tabágico provoca na saúde humana, bem como o seu impacto na taxa de mortalidade por doenças associadas ao fumo²⁴. O tabagismo é um dos principais fatores de risco para as doenças crônicas não transmissíveis, sendo responsável por cerca de 6 milhões de mortes ao ano²⁵. Projeções apontam que, em 2020, esse número será de 7,5 milhões, ou

Tabela 2. Associação do tabagismo com biomarcadores do estresse oxidativo e fatores de risco cardiometabólicos em idosos da Estratégia Saúde da Família de Porto Alegre/RS (N=981)

	Homens			p	Mulheres			p
	Não tabagista	Ex-tabagista	Tabagista		Não tabagista	Ex-tabagista	Tabagista	
	Média ± DP				Média ± DP			
Marcadores bioquímicos, inflamatórios e oxidativos								
NO ₂ (µmol/L)	98,1 ^b ± 83,1	173,4 ^a ± 169,8	167,5 ^a ± 128,5	0,012	140,6 ± 198,2	116,2 ± 134,8	185,6 ± 257,3	0,393
AOFP (µmol/L)	97,8 ± 46,3	152,0 ± 273,2	103,6 ± 49,1	0,253	109,3 ± 96,6	102,0 ± 51,0	117,0 ± 92,3	0,784
FRAP (µmol/L)	822,9 ^a ± 454,3	1466,9 ^b ± 1439,1	816,3 ^a ± 382,2	0,001	993,0 ± 942,3	1197,6 ± 804,2	1151,5 ± 1484,1	0,566
PCR-us	0,31 ± 0,17	0,33 ± 0,21	0,33 ± 0,21	0,98	0,56 ± 1,20	0,25 ± 0,05	0,48 ± 0,69	0,510
IL-6 (pg/mL)	6,2 ± 22,8	3,8 ± 4,4	3,1 ± 3,1	0,618	3,9 ± 6,8	3,7 ± 4,5	3,0 ± 2,2	0,697
Glicose (mg/dl)	135,7 ± 68,9	113,2 ± 26,6	117,7 ± 46,8	0,079	118,0 ± 43,3	127,6 ± 69,7	118,6 ± 32,8	0,535
Insulina (µU/mL)	5,1 ± 4,2	2,9 ± 1,8	6,1 ± 11,3	0,308	8,6 ± 16,8	3,7 ± 3,8	3,2 ± 2,1	0,238
Homa-IR	2,0 ± 1,9	0,8 ± 0,6	1,7 ± 3,2	0,189	2,0 ± 3,3	1,3 ± 1,4	0,9 ± 0,8	0,304
Col (mg/dL)	184,7 ± 36,5	198,1 ± 65,2	187,0 ± 43,8	0,374	192,6 ± 43,2	197,7 ± 44,3	192,8 ± 49,3	0,832
LDL-c	107,4 ± 35,3	116,0 ± 36,6	130,5 ± 41,2	0,520	110,9 ± 39,8	113,8 ± 43,6	112,5 ± 42,5	0,921
TG (mg/dL)	141,7 ± 64,9	185,2 ± 227,3	147,5 ± 81,9	0,260	140,2 ± 67,4	133,5 ± 55,9	147,3 ± 65,0	0,445
HDL-c	49,2 ^a ± 11,8	44,2 ^a ± 10,1	51,7 ^a ± 17,2	0,035	52,7 ± 12,5	57,2 ± 16,3	50,8 ± 9,9	0,059
Médias antropométricas								
IMC (kg/m ²)	28,4 ^a ± 4,9	26,7 ^b ± 4,3	25,5 ^b ± 3,6	0,003	28,8 ± 6,3	27,6 ± 5,2	28,6 ± 5,6	0,559
CC (cm)	98,5 ^a ± 9,5	95,3 ^b ± 9,3	93,3 ^b ± 9,3	0,017	95,9 ± 13,7	95,5 ± 11,0	95,9 ± 11,9	0,988
Pressão arterial (mmHg)								
Sistólica	140,8 ± 21,9	136,8 ± 20,1	136,0 ± 18,9	0,423	132,8 ± 18,2	133,9 ± 17,5	134,3 ± 19,8	0,859
Diastólica	85,7 ± 12,7	84,6 ± 11,9	85,0 ± 10,1	0,878	83,2 ± 11,1	81,4 ± 11,0	81,1 ± 9,8	0,401

p = análise de variância ANOVA; valores médios com letras diferentes subscritas são significativamente diferentes (teste de Bonferroni); DP = desvio padrão; NO₂ = metabólitos do óxido nítrico; AOFP = produto avançado da oxidação proteica; FRAP = ferric reducing ability of plasma; PCR-us = Proteína C reativa ultrasensível; IL-6 = interleucina 6; Col = colesterol; LDL-c = low density lipoprotein; TG = triglicérides; HDL-c = high density lipoprotein; IMC = índice de massa corporal; CC = circunferência da cintura

seja, 10% de todas as mortes ocorridas no mundo²⁷. Além disso, o ato de fumar induz o aumento de produção de subprodutos da peroxidação lipídica e do metabolismo do óxido nítrico, a elevação do estresse oxidativo celular e, concomitantemente, o processo inflamatório e a disfunção endotelial e plaquetária²⁸.

Por outro lado, pesquisas mostram que a nicotina promove redução do apetite e maior saciedade devido à sua ação sobre o hormônio leptina e sobre o neuropeptídeo Y, que desempenham um papel importante na ingestão alimentar, ocasionando uma diminuição do peso corporal^{21,24,29,30}. A busca na literatura sobre esse tema evidenciou uma total ausência de artigos com essa abordagem na população idosa, demonstrando a necessidade de investigação mais profunda para compreender melhor a associação entre tabagismo, sexo, índice de massa corporal, doenças cardiovasculares e metabólicas, marcadores de estresse oxidativo e capacidade antioxidante e inflamatória nessa população.

Do total da amostra, 30,4% declararam fumar, porém outras pesquisas^{31,32} demonstraram uma porcentagem menor de fumantes nessa faixa etária acima dos 60 anos, bem como redução ou extinção do tabagismo com o envelhecimento, mas também é preciso considerar o tamanho amostral de cada estudo e a classificação quanto ao hábito tabágico.

Em uma metanálise sobre o uso de tabaco em idosos³, os autores constataram que o maior predomínio do consumo de cigarros foi encontrado entre os homens. Segundo dados do Ministério da Saúde, em 2014, algumas variáveis se associaram à prevalência de tabagismo: as proporções de fumantes são consistentemente superiores no sexo masculino e entre aqueles com menor grau de instrução, reduzindo-se progressivamente à medida que se aumentam os anos de estudo,³³ dado esse que corrobora os resultados obtidos no presente estudo.

No que se refere as variáveis antropométricas, os idosos tabagistas do sexo masculino apresentaram significativamente menor circunferência da cintura e índice de massa corporal, assemelhando-se com os resultados de um estudo sobre a associação entre fumo e obesidade abdominal em doadores de sangue, no qual, após análises de regressão linear múltipla, o tabagismo estava associado positivamente ao IMC e à relação cintura/quadril³⁴.

Em uma revisão sistemática sobre os efeitos da nicotina na homeostase energética e na alimentação, seus autores citam estudos nos quais essa substância reduz o peso corporal, promove o aumento do gasto energético e a inibição da fome, em decorrência da ação modeladora do princípio ativo do tabaco, tanto nos processos metabólicos quanto nos circuitos de

recompensa. Experimentos realizados em roedores mostraram que o alcaloide extraído das folhas de tabaco atua, principalmente, por meio de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs), os quais são amplamente expressos em todo o sistema nervoso central e periférico, podendo alterar a expressão, a secreção ou a função de neuropeptídeos que regulam o apetite. A nicotina também altera os níveis de certos peptídeos periféricos, em vias vagais aferentes viscerais, que, do mesmo modo que o tabaco, desempenham um papel importante na ingestão alimentar²³.

Todavia, se, por um lado, o tabagismo, via nicotina, pode evitar que o organismo ganhe peso e aumente a circunferência abdominal, por outro está intimamente relacionado com a incidência de algumas doenças crônicas não transmissíveis, como as cardiovasculares e o câncer, gerando uma carga econômica substantiva devido aos custos da assistência médica e uma diminuição da produtividade em razão da morte prematura²⁴.

Entre os efeitos nocivos do tabaco no sistema cardiovascular, destacam-se as alterações nas concentrações plasmáticas de lipoproteínas, o que está bem documentado na literatura, por exemplo, em relação ao aumento de triglicérides e da LDL-c²⁵. Entretanto, os idosos tabagistas do gênero masculino do presente estudo apresentaram maiores médias de HDL-c em comparação aos demais grupos, por causa da não investigação em relação à dieta, da prática de exercício físico ou da suplementação com ômega 3, os quais exercem efeitos sobre os níveis de HDL-c,²⁶ bem como outros marcadores, como a APO A e Apo B, principais proteínas encontradas na HDL-c e LDL-c, torna-se difícil encontrar uma resposta plausível para esse resultado. Tendo em vista que a APO A e a APO B são apontadas como indicadores ideais de lipoproteínas aterogênicas, fornecendo dados mais confiáveis sobre o efeito do fumo nas lesões endoteliais; ainda assim, a interação entre fatores genéticos e ambientais pode determinar o fenótipo do perfil lipídico^{26,40}.

Em contrapartida, se os homens que possuem o hábito de fumar apresentaram menor IMC, circunferência da cintura e maior HDL-c, esses mesmos sujeitos obtiveram valores elevados do metabólito do óxido nítrico, resultado semelhante encontrado por Vargas⁴¹ et al., em cujo estudo os fumantes adultos com e sem depressão tiveram significativamente maiores concentrações de NO_x, um importante biomarcador responsável pela hipertrofia e apoptose endotelial, acarretando o surgimento das doenças vasculares, incluindo hipertensão arterial e aterosclerose⁴².

Com relação à capacidade antioxidante, o método utilizado foi a variável de habilidade plasmática de redução férrica (FRAP). Portadores de doenças cardiovasculares, como infarto do miocárdio e aterosclerose, possuem esses valores reduzidos, já que os antioxidantes possuem um papel fundamental em tais patologias⁴³. Os idosos ex-tabagistas do gênero masculino apresentaram maior média desse marcador em comparação com os tabagistas e os que não fumam, mas ressalva-se que

o FRAP está relacionado com o consumo alimentar, pois determinados alimentos, principalmente as frutas e as verduras, ricas em vitaminas C e E, e os cereais integrais, desempenham ação antioxidante⁴⁴.

Convém salientar que houve restrição de estudos para corroborar tal achado. Somente uma pesquisa com achados semelhantes foi encontrada nas bases de dados, realizada por Miri⁴⁵ et al., na qual os fumantes apresentaram maiores médias de FRAP; entretanto, os autores não diferenciaram os indivíduos em ex-tabagistas, e sim naqueles que fumam atualmente e os que nunca consumiram cigarros, e partir de então foram estratificados de acordo com perfil lipídico, diferenciando dos resultados deste estudo.

Idosos tabagistas, por terem sofrido em suas vidas exposições mais longas de cigarros sem filtro com elevados teores de nicotina, possuem um risco elevado de doenças do coração, no aparelho circulatório e no pulmão⁴⁶. Trata-se de um ciclo de vida, com tendência elevada de agravos crônicos, e o vício de fumar contribui para o surgimento de morbidades e complicações, além de prejuízos terapêuticos de correntes do efeito do tabaco no metabolismo de alguns fármacos⁷.

Diversos benefícios podem ser obtidos com a cessação do tabagismo em pessoas acima dos 60 anos, tais como melhor qualidade e aumento na expectativa de vida e redução do risco de complicações já existentes, mesmo naqueles indivíduos muito idosos⁴⁷. O tratamento para o abandono do tabagismo está entre as intervenções médicas que apresentam a melhor relação custo-benefício, superior inclusive às intervenções direcionadas para hipertensão arterial leve a moderada, dislipidemia e infarto do miocárdio⁴⁸.

Nesse sentido, vale ressaltar que, de acordo com o *International Tobacco Control (ITC)*, o Brasil é líder nas Américas em relação ao controle do tabaco e está em primeiro lugar em âmbito mundial nas advertências sanitárias em embalagens de cigarro⁴⁹. Com o intuito de universalizar a terapêutica para a suspensão do fumo, o Ministério da Saúde reviu a portaria que promovia as diretrizes para o Programa Nacional de Controle do Tabagismo (PNCT) e publicou a Portaria MS/GM nº 571, de 5 abril de 2013, definindo como locus principal de cuidado da pessoa que fuma a atenção básica (AB), nível de atenção à saúde mais capilarizado e próximo dos usuários. Assim, a AB ocupa uma posição privilegiada e estratégica para controle do tabaco dentro do Sistema Único de Saúde⁴⁸.

O estudo apresenta algumas limitações que se referem, principalmente, ao delineamento. Os mais adequados para esse tipo de investigação seriam o de caso-controle, em que permitiria verificar uma situação de causa, e o de efeito do hábito tabágico sobre as variáveis investigadas. Outra restrição diz respeito à não coleta de dados sobre hábitos alimentares, prática de atividade física e polimorfismos genéticos, que estão bem estabelecidos

na literatura como moduladores do metabolismo REDOX, inflamatório e detoxificação do organismo, por exemplo, o fumo. Contudo, este é o primeiro estudo a investigar essas associações entre tabagismo, fatores de risco cardiometabólicos e biomarcadores do metabolismo REDOX em idosos, o que contribui para o aumento da compreensão sobre essa temática, bem como abre precedentes para investigações futuras.

Os resultados do estudo mostram que os idosos do sexo masculino tabagistas apresentaram menor circunferência da cintura e índice de massa corporal, assim como maiores médias de HDL-c, quando comparados ao grupo dos não fumantes. Entretanto, foi observada diferença nas médias dos marcadores de estresse oxidativo, como o NO_2 , o qual está associado com surgimento de doenças cardiovasculares e síndrome

metabólica. Além disso, elevadas concentrações séricas de capacidade antioxidante avaliada pelo ensaio FRAP foram detectadas nos que pararam de fumar. Por isso, evidencia-se a importância para a adesão à cessação do tabagismo, uma vez que a nicotina é administrada no organismo com milhares de substâncias tóxicas, predispondo o indivíduo à ocorrência de doenças crônicas limitantes e fatais. Por conseguinte, tornam-se fundamentais as implementações de educação em saúde para a suspensão do tabaco em indivíduos idosos e demais faixas etárias, reforçando os malefícios do cigarro e os benefícios da suspensão do fumo a longo prazo, para prevenção de doenças, melhora na qualidade de vida e nas relações sociais no que diz respeito ao convívio em lugares públicos com os não fumantes.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization. Tobacco questions for surveys: a subset of key questions from the Global Adult Tobacco Survey (GATS): global tobacco surveillance system [Internet]. Geneva: WHO; 2011 [citado em 2015 Nov 12]. Disponível em: <http://www.who.int/tobacco/surveillance/gats/en/index.html>
- Instituto Nacional do Câncer. Tabagismo: dados numéricos [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2014 [citado em 2015 Maio 17]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/tabagismo/dadosnumeros/top.shtml>
- Marcilio V, Laks J, Coutinho ESF, Bley SL. Tobacco use among the elderly: a systematic review and meta-analysis. *Cad Saude Publica*. 2010;26(12):2213-33. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2010001200002>. PMID:21243218.
- Dezeto SV, Fermo IO, Lima-Costa ME. Condições de saúde e tabagismo entre idosos residentes em duas comunidades brasileiras (Projetos Bambuí e Belo Horizonte). *Cad Saude Publica*. 2006;22(9):1925-34. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2006000900024>. PMID:16917590.
- Viana DA, Rodrigues LR, Tavares DMS. Fatores socio-demográficos e econômicos associados ao tabagismo na população idosa. *J Bras Patol*. 2014;63(3):220-6. <http://dx.doi.org/10.1590/0047-2085000000029>.
- Nunes SOB, Castro MRR, Castro MS A. Tabagismo, comorbidades e danos à saúde. In: Nunes SOV, Castro MRR, editores. Tabagismo: abordagem, prevenção e tratamento [Internet]. Londrina: EDUEL; 2011 [citado em 2015 Out 25]. p. 17-38. Disponível em: <http://books.scielo.org>
- Tallafra AK, Oberley-Deegan RE, Butterfield KT, Nicks ME, Weaver MD, Ramig LJ, et al. Endogenous Enzymes (NOX and ECSOD) regulate smoke induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2010;49(12):1837-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.022>. PMID:20887783.
- Ścińska M, Zalewska M, Grzałka A, Mikrociewicz H. The influence of the occupational exposure to heavy metals and tobacco smoke on the selected oxidative stress markers in smokers. *Biol Trace Elem Res*. 2014;159(1-3):59-68. <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-014-9994-9>. PMID:24789476.
- Fukami K, Yanagishi S, Iida S, Matsumoto H, Okada S. Involvement of Iron-Induced Oxidative Stress in Smoking-Related Endothelial Dysfunction in Healthy Young Men. *PLoS One*. 2014;9(2):e89403. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0089403>. PMID:24586777.
- Sest RC, Lee CY, Loke WM, Huang SH, Huang H, Looi WE, et al. Biomarkers of oxidative damage in cigarette smokers: which biomarkers might reflect acute versus chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med*. 2011;50(12):1787-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.019>. PMID:21420460.
- Li MD, Kane JK, Parker SL, McAllen K, Matta SG, Sharp BM. Nicotine administration enhances NPY expression in the rat hypothalamus. *Brain Res*. 2000;867(1-2):157-64. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)2283-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(00)2283-6). PMID:10837808.
- Husain T, Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Deeb HM, Al-Rubnan SH, Yakout SM. Plasma neuropeptide Y levels relate cigarette smoking and smoking cessation to body weight regulation. *Regul Pept*. 2012;176(1-3):23-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.regpep.2012.02.025>.
- Gomes I, Nogueira EL, Engroff F, Ely LS, Schwelke CHA, De Carli GA. The multidimensional study of the elderly in the family health strategy in Porto Alegre, Brazil (EMI-SUS). *Pan Am J Aging Research*. 2012;1(1):20-4.
- Centers for Disease Control and Prevention. Cigarette smoking among adults - United States, 1992, and changes in the definition of current cigarette smoking. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 1994;43(19):442-6. PMID:9177192.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499-502. PMID:4337382.
- Hamasand M, Omdal R, Norheim KB, Geransson LG, Breda C, Jonsson G. Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. *Clin Chim Acta*. 2012;413(9-10):901-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.01.038>. PMID:22336637.
- Tsich E, Becht GV, Pereira ES, Kober H, Agerti VA, de Campor MM, et al. A simple and inexpensive automated technique for measurement of serum nitrite/nitrate. *Clin Biochem*. 2011;44(4):348-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2010.12.011>. PMID:21185277.
- Benzie IFE, Strain JJ. The ferric-reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996;239(1):70-6. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1996.0292>. PMID:8660627.
- Matthews DR, Hosker JR, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00260583>. PMID:3899825.

20. Geloneze B, Rapetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermacora MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population II in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006;73(2):219-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2005.10.017>. PMID:16310881.
21. Marfell-Jones M, Olds T, Stewart A, Carter L. International standards for anthropometric assessment. north-west university. South Africa: International Society for the Advancement of Kinanthropometry School of Biokinetics, Recreation and Sport; 2006.
22. Garrow JS, Webster J. Quetelet's index (W/H²) as a measure of fitness. *Int J Obes*. 1985;9(2):147-53. PMID:8030199.
23. Lipschitz DA. Screening for nutritional status in the elderly. *Primary care*. 1994;21(1):55-67. PMID:8197257.
24. Sociedade Brasileira de Hipertensão et al. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol*. 2009;84(Suppl 1):1-28.
25. Sociedade Brasileira de Hipertensão. VI Diretriz Brasileira de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010;85(1 Suppl 1):1-51.
26. Oberg M, Jaakkola MS, Woodward A, Deruga A, Pruss-Ustun A. Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries. *Lancet*. 2013;377(9760):139-46. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61388-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61388-8). PMID:231112082.
27. Pinto MT, Pacheco-Sheires A, Bardach A. Estimativas da carga do tabagismo no Brasil: mortalidade, morbidade e custos. *Cad Saude Publica*. 2015;31(6):1283-97. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X00192013>. PMID:26200375.
28. Laidike E, Magnette J, Baber G, Weikusat R. A Japanese cross-sectional multicentre study of biomarkers associated with cardiovascular disease in smokers and non-smokers. *Biomarkers*. 2015;20(6-7):411-21. <http://dx.doi.org/10.3109/1354750X.2015.1096303>. PMID:26616146.
29. Gomes AS, Toffolo MCE, Kaulan HV, Silva FMC, Ferreira AR, Laqueti SCFD, et al. Influence of the leptin and cortisol levels on craving and smoking cessation. *Psychiatry Res*. 2015;229(1-2):126-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2015.07.060>.
30. Elhataray HS, Netherton SJ, Owens JD, Ferguson AV, Maurice DH. Adipocytokines, ghrelin and leptin differentially influence human platelet and human vascular endothelial cell functions: Implication in obesity-associated cardiovascular diseases. *Eur J Pharmacol*. 2007;551(1-3):7-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.11.052>. PMID:17207790.
31. Pereira RI, Cotta RMM, Francoekhai SCC, Ribeiro RCL, Tinoco ALA, Euzébio LEFW. Análise do perfil socioeconômico de idosos: a importância do Programa de Saúde da Família. *Rev Med Minas Gerais*. 2010;20(Supl 1):5-15.
32. Senger AEV, Ely LS, Gandolfi T, Schneider RH, Gomes I, Carli GA. Alcoolismo e tabagismo em idosos: relação com ingestão alimentar e aspectos socioeconômicos. *Rev Bras Geriatr Gerontol*. 2011;14(4):713-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S1809-98232011000400010>.
33. Brasil. Ministério da Saúde. Número de fumantes no Brasil [Internet]. Brasília; 2015 [citado em 2015 Jan 10]. Disponível em: <http://www.brazil.gov.br/saude/2015/05/cat-numero-de-fumantes-no-brasil/view>
34. Facis CS, Botelho C, Silva RM, Ferreira MG. Tabagismo e obesidade abdominal em doadores de sangue. *J Bras Pneumol*. 2012;38(3):356-63. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132012000300011>. PMID:22782606.
35. Stojakovic A, Espinosa OT, Fachad K, Lotfy K. Effects of nicotine on homeostatic and hedonic components of food intake. *J Endocrinol*. 2017;235(1):13-31. <http://dx.doi.org/10.1530/JOE-17-0166>. PMID:28834527.
36. Pinto M, Ugi MAD. Os custos de doenças tabaco-relacionadas para o Sistema Único de Saúde. *Cad Saude Publica*. 2010;26(6):1234-45. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2010000600016>. PMID:20657987.
37. Erkas ME, Altiparmak H, Garabakmaz O. Smoking, diabetes mellitus, thyroid dysfunction, and a variety of drugs have potential effects on Serum HDL-C level. *Angiology*. 2016;67(6):597. <http://dx.doi.org/10.1177/0003319715598886>. PMID:26287737.
38. Xavier HT, Icar MC, Faria R No, Assad MH, Rocha VZ, Sportivo AC, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101(4 Suppl 1):1-22. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20130510>.
39. Terkeltaub R. Apolipoprotein A-1 at the interface of vascular inflammation and arthritis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(3):674-6. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303112>. PMID:24554604.
40. Chien KL, Hsu HC, Su TC, Chen MF, Lee YT, Ho FR. Apolipoprotein B and non-high density lipoprotein cholesterol and the risk of coronary heart disease in Chinese. *J Lipid Res*. 2007;48(11):2499-505. <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.M700213-JLR200>. PMID:17698856.
41. Vargas HO, Nunes SQ, Castro MR, Vargas MM, Barbosa DS, Botelho CC, et al. Oxidative stress and inflammatory markers are associated with depression and nicotine dependence. *Neurosci Lett*. 2013;544:136-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2013.05.029>. PMID:23983694.
42. Mettles DN, Pagano PJ. Nox and Inflammation in the vascular adventitia. *Hypertension*. 2016;67(1):14-9. <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.03622>. PMID:26551230.
43. Rossi M, Prasad D, Compagnoni MM, Bellocchio R, Serafini M, Parpola M, et al. Dietary non-enzymatic antioxidant capacity and the risk of myocardial infarction: A case-control study in Italy. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24(11):1246-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2014.06.007>. PMID:25063538.
44. Jin Y, Gordon MH, Alimbetov D, Chong ME, George TW, Spencer JR, et al. A novel combined biomarker including plasma carotenoids, vitamin C, and Ferric Reducing antioxidant power is more strongly associated with fruit and vegetable intake than the individual components. *J Nutr*. 2014;144(11):1866-72. <http://dx.doi.org/10.3945/jn.114.302856>. PMID:25332486.
45. Miri R, Saadati H, Ardi P, Firuzi O. Alterations in oxidative stress biomarkers associated with mild hyperlipidemia and smoking. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(3-4):920-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2011.12.031>. PMID:22227215.
46. Zaitone MPA, Barros MBA, Lima MG, César CLG, Casadina L, Goldbaum M, et al. Fatores associados ao tabagismo em idosos: Inquérito de Saúde no Estado de São Paulo (ISA-SP). *Cad Saude Publica*. 2012;28(3):583-96. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2012000300018>. PMID:22415190.
47. Carvalho AA, Gomes I, Loureiro AL, Seneca ANC. Controle do tabagismo em instituição de longa permanência para idosos: relato de experiência. *Cien Saude Colet*. 2013;18(4):1119-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232013000400025>. PMID:23670789.
48. Brasil. Ministério da Saúde. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: o cuidado da pessoa tabagista [Internet]. Brasília: Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica; 2015 [citado em 2018 Jan 11]. (Cadernos de Atenção Básica, 40). Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/caderno_40.pdf
49. International Tobacco Control. Relatório da Pesquisa ITC Brasil sobre publicidade, promoção e patrocínio do tabaco [Internet]. Ontário: ITC; 2013 [citado em 2016 Jan 11]. Disponível em: <http://www.itcproject.org/resources/view/1513>

Recebido em: Set. 09, 2016
Aprovado em: Out. 13, 2018

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de envelhecimento humano é um fenômeno extremamente complexo, o qual envolve a interação de fatores tanto genéticos quanto ambientais. Sobretudo, segundo as teorias evolucionistas, o envelhecimento resulta de um acúmulo de eventos estocásticos, devido a investimentos limitados em manutenção e reparo somático no período pós-reprodutivo. Contudo, a longevidade parece ser regulada por genes que controlam níveis de atividades como reparo do DNA e defesa antioxidante. Nesse cenário o gene da enzima antioxidante superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD) ocupa um papel de destaque, pois codifica a enzima que atua na linha de frente ao combate e controle de radicais livres (RL) e espécies reativas de oxigênio (ERO) dentro da mitocôndria. E alguns estudos têm sugerido que o polimorfismo Val16Ala da MnSOD está associado com o estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis em idosos. Nesse sentido, o presente estudo contribuiu para a melhor compreensão das interações envolvendo a genética, o consumo alimentar e a atividade física em idosos da atenção básica de saúde do município de Porto Alegre. Estudos como este são de difícil execução, pois envolvem uma logística específica e complexa e que, necessita, sobretudo, de uma equipe qualificada e treinada.

Acima de tudo é importante ponderar que a expectativa de vida média do brasileiro está em torno dos 75,5 anos de idade, isto sugere que aos 60 anos de idade, o indivíduo tem a chance de viver ainda mais 15,5. Entretanto, ao mesmo tempo que a expectativa de vida aumenta, também aumenta a prevalência de fatores de riscos cardiometabólicos e doenças crônicas. Tais doenças, podem ter origem tanto genéticas (polimorfismos), desbalanço REDOX e inflamação quanto advindas de um estilo de vida inadequado (sedentarismo e má nutrição). Contudo, a interação desses fatores pode desencadear e /ou exacerbar fenótipos desvantajosos, impactando negativamente na qualidade de vida dos idosos. Por isso, apesar do presente estudo apresentar determinadas limitações, como delineamento transversal, não aplicação de inquéritos alimentares mais específicos e a avaliação combinada de outros polimorfismos genéticos associados a maquinaria antioxidante, o mesmo apresentou resultados importantes e inéditos, reforçando a recomendação de maior ingestão de alimentos ricos em fibras e moléculas antioxidantes, como frutas e verduras para

equilibrar o metabolismo REDOX e promoção de saúde do segmento idoso. Adicionalmente, ressalvadas as limitações do estudo, o mesmo possibilitou o encaixe de mais uma peça nesse intrincado quebra-cabeças chamado envelhecimento humano e lança luz para futuras investigações no tema.

9 CONCLUSÃO

- Idosos com o genótipo AA estão mais frequentemente distribuídos no maior quartil de AOPP.
- Idosos com o genótipo VV estão distribuídos no menor quartil de FRAP.
- A maioria dos idosos consomem de duas ou mais porções semanais de legumes e ovos (87,2%) e pelo menos, duas porções diárias ou mais de frutas e vegetais.
- Idosos heterozigotos consomem duas porções diárias ou mais de frutas e vegetais ($P=0,017$), em contrapartida os homozigotos para o alelo V consomem menos de duas porções diárias de frutas e verduras e os idosos homozigóticos para o alelo A, ingerem duas ou mais porções semanais de legumes e ovos.
- A mediana do HOMA-IR foi maior nos idosos com genótipos VV em relação aos idosos heterozigotos.
- A mediana da insulina foi maior nos indivíduos do genótipo AA, em relação aos idosos heterozigotos.
- Quanto ao perfil lipídico, observou-se que idosos com o genótipo AA apresentaram maiores médias de concentração da lipoproteína de alta densidade HDL-c, em relação aos heterozigotos.
- E para finalizar, não foi encontrada associação do polimorfismo Val16Ala com os marcadores NOx, IMA, MDA, PCR-us e IL-6 e nem com o gasto calórico na amostra estudada.

10 REFERÊNCIAS

- ALAGOZLU, H.; GORGUL, A.; BILGIHAN, TUNCER, UNAL, S. Increased plasma levels of advanced oxidation protein products (AOPP) as marker for oxidative stress in patients with active ulcerative colitis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, v.37, n.1, p.80-5, 2013.
- AMBROSONE, C.B., FREUDENHEIM, J.L., THOMPSON, P.A., BOWMAN, E., VENA, J.E., MARSHALL, J.R., GRAHAM, S., LAUGHLIN, R., NEMOTO, T., SHIELDS, P.G. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer. *Cancer Res*, v. 59, p. 602–606, 1999.
- ANTUNES, H.K.M. et al. Exercício físico e função cognitiva: uma revisão. *Rev. Bras. Med Esporte*, v.12, n.2, p.108-114, 2006.
- AVIV, A. Leukocyte telomere length: the telomere tale continues. *Am J Clin Nutr*, v.89, p.1721–1722, 2009.
- BABIOR, B. M.; BRAZ. *J. Med. Biol. Res*, v.30, p.141, 1997.
- BALCOMBE, N.; SINCLAIR, A. Ageing: Definitions, mechanisms and the magnitude of the problem. **Best Practice & Research Clinical**, v.15, p.835-849, 2001.
- BANERJEE, M.; CUBAS, P. metabólitos reativos e polimorfismos de genes antioxidantes em diabetes mellitus tipo 2. **Redox Biology**, v. 2, p.170-177, 2013.
- BARBOSA, K.B.; COSTA, N.M.; ALFENAS, R.C.; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, 2010.
- BAR-OR, D.; CURTIS, G.; RAO, N.; BAMPOS, N.; LAU, E. Characterization of the Co(2+) and Ni(2+) binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. *Eur J Biochem*, v.268, p.42-47, 2001.
- BAR-OR, D.; LAU, E.; WINKLER, J.V. Novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report. **Journal of Emergency Medicine**, v.19, p.311-315, 2000.
- BAR-OR, D.; WINKLER, J.V.; VAN, B. K.; HARRIS, L.; LAU, E.; HETZEL, F.W. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. *Am Heart J*;131:985-991, 2001.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2009.

BARREIROS, A.L.; DAVID, B.S.; JORGE, M. & DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29,n.1,p.113-123,2006.

BECKMAN, K.; AMES, B. The free radical theory of aging matures. **Version Physiology**. v.78,p.547-58,1998.

BENZIE, I.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, PubMed PMID: 8660627 Jul v.15,n.239,p.70-6,1996.

BENZIE, I.F.; STRAIN, J.J. O férrico reduzindo a capacidade do plasma (FRAP) como uma medida do "poder antioxidante": o ensaio FRAP. **Analytical Biochemistry**,v.239,1996.

BHAGAVAN, N.V.; LAI, E.M.; RIOS, P.A.; YANG, J.; ORTEGA-LOPEZ, A.M.; SHINODA, H. et al. Evaluation of Human Serum Albumin Cobalt Binding Assay for the Assessment of Myocardial Ischemia and Myocardial Infarction. **Clinical Chemistry**,v.49,n.4,p.581–585,2003.

BHAGAVAN, N.V.; LAI, E.M.; RIOS, P.A.; YANG, J.; ORTEGA-LOPEZ, A.M.; SHINODA, H. et al. Evaluation of Human Serum Albumin Cobalt Binding Assay for the Assessment of Myocardial Ischemia and Myocardial Infarction. *Clinical Chemistry*, v.49, n.4, p.581– 585, 2003.

BHOJAK, T. J.; DEKOSKY, S. T.; GANGULI, M.; KAMBOH, M. I. Genetic polymorphisms in the cathepsin D and interleukin-6 genes and the risk of Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*. Amsterdam, v.288, n.1, p.21-24, 2000.

BICA, C.G.; DE MOURA DA SILVA, L.L.; TOSCANI, N.V.; DA CRUZ, I.B.; SÁ G, GRAUDENZ MS, *et al.* MnSOD gene polymorphism association with steroid-dependent cancer. *Pathol Oncol Res*, v.15, n.1, p.19-24, 2009.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. *Obesidade/Ministério da Saúde*, 2006

BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção à Saúde; Departamento de Atenção Básica. **Envelhecimento e saúde da pessoa idosa. Brasília**; (Cadernos de Atenção Básica, n.19),2006.

BRESCIANI, G.; CRUZ, I.B.; DE PAZ, J.A.; CUEVAS, M.J.; GALLEGOS, G.J. The MnSOD Ala16Val SNP: relevance to human diseases and interaction with environmental factors. **Free Radical Research**,v.47,n.10,p.781– 792,2013.

CAI, Q.; SHU, X.O.; WEN, W.; CHENG, J.R. DAI, Q.; GAO, Y.T. *et al.* Genetic polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene, antioxidant intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Sep*, v.6, n.6, p.647-655, 2004.

CAO, G.; et al. A capacidade antioxidante do soro é aumentada pelo consumo de morangos, espinafre, vinho tinto ou vitamina C em mulheres idosas. **The Journal of Nutrition**, v.128, p.2383-90, 1998.

CARDOSO, A.M. et al. "Acute effects of resistance exercise and intermittent intense aerobic exercise on blood cell count and oxidative stress in trained middle-aged women". **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.45, n.12, 2012.

CASTILLO, L. L.; BEAUMIER, A. M.; AJAMI, A. V. R.; YOUNG. Whole body nitric oxide synthesis in healthy men determined from [15N] arginine-to-[15N]citrulline labeling. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 93, n.21, p.11460-5, 1996.

CHAISSWING, L.; ZHONG, W.; OBERLEY, T.D. Increasing discordant antioxidant protein levels and enzymatic activities contribute to increasing redox imbalance observed during human prostate cancer progression. *Free Radic Biol Med.*, v.67, p.342-352, 2014.

CHANG, E.T.; BOFFETTA, P.; ADAMI, H.O.; COLE, P.; MANDEL, J.S. A critical review of the epidemiology of Agent Orange/TCDD and prostate câncer. *Eur J Epidemiol*, v.29, n.10, p.667-723, 2014.

CHAWLA, R.; NAVENDU, G.; RAJNEESH, C. et al. Ischemia modified albumin: a novel marker for acute coronary syndrome. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v.21, p.77-82, 2006.

CHOU & FASMAN Secondary Structure Prediction server. *WIDE SPECTRUM: Research Journal*, v.1, n.9, p.15-19, 2013.

COLL, C.; MARCHESI, Á.; PALACIOS, J. et al. **Desenvolvimento Psicológico e Educação: Transtornos de Desenvolvimento e necessidades Educativas Especiais**. Editora: Artmet, v.2, p.372, 2004.

CORBIN, G. et al. "Is physical activity able to modify oxidative damage in cardiovascular aging?". **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, vol.2012.

CRAFT, S. et al. Session III: Mechanisms of age-related cognitive change and targets for intervention: inflammatory, oxidative, and metabolic processes. **Jounal Gerontol**. A. Biol. Sci. Med. Sci, Disponível em: <<http://biomedgerontology.oxfordjournals.org/content/early/2012/05/07/gerona.gls11.1.ong>>2012.

CULIEN, J.J.; WEYDERT, C.; HINKHOUSE, M.M.; RITCHIE, J.; DOMANN, F.E.; SPITZ, D.; OBERLEY, L.W. The role of manganese superoxide dismutase in the growth of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res*, v.15, n.6, p.1297-303, 2003.

CUMMINGS, J.L.; KHACHATURIAN, Z.S. Definitions and diagnostic criteria. In: Gauthier S. *Clinical Diagnosis and Manegement of Alzheimer's Disease.*, Malden: **Martin Dunitz**, v.2, p.3-14, 2001.

DA SILVA, C.T.; JASIULIONIS, M.G. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. **Ciencia e Cultura**, v.66, n.1, São Paulo 2014.

DANESH, J.; WHINCUP, P.; WALKER, M.; LENNON, L.; THOMSON, A.; APPLEBY, P. et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ*, v.321, n.7255, p.199-204, 2000.

DAVIDSON, W.A.S.: Metaphors of health and aging: geriatric as metaphor. In: Kenyon GM, Birren JE, Schroots JJF, editors. *Metaphors of aging in science and the humanities*. New York: Springer, 173-84, 1991.

DAVIS, K. L.; E. MARTIN, I. V.; TURKO, AND F. MURAD. Novel effects of nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, v. 41, p.203-36, 2001.

DE MELLO *et al.* O exercício físico e os aspectos psicobiológicos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.11, n.3, p.205, 2005.

DELL'ANNA, M.L. et al. Membrane lipid alterations as a possible basis for melanocyte degeneration in vitiligo. *J Invest Dermatol*, v.127, n.5, p.1226-33. 2007

DIMRI, G.P. What has senescence got to do with cancer? *Cancer Cell*, v.7, p.505-12, 2005.

DRÖGE, W. Free Radicals in th Physiological Control of Cell Function. **Revist Physiology, Bethesda**, n.82, p.47-95, 2002.

DURACKOVÁ, Z. SOME CURRENT INSIGHTS INTO OXIDATIVE STRESS. **PHYSIOLOGICAL RESEARCH**, v.59, p.459-469, 2010.

Elisa Silva Ferreira (Bolsista FAPESP), Gabriela F. P. de Souza e Prof. Dr. Marcelo Ganzarolli de Oliveira QUANTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS DO ÓXIDO NÍTRICO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS POR QUIMILUMINESCÊNCIA (Orientador), Instituto de Química - IQ, UNICAMP. 2011.

ERSHLER, W.B. Interleukin-6: a cytokine for gerontologists. *J Am Geriatr Soc*, v.41, n.2, p.176-81, 1993.

ERSHLER, W.B.; KELLER, E.T. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. *Annu Rev Med*, v.51, p.245-70, 2000.

Executive Summary Of The Third Report Of The National Cholesterol Education Program (Ncep). Expert Panel On Detection, Evaluation, And Treatment Of High Blood Cholesterol In Adults (ATPIII). *JAMA*, v.285, p.2486-97, 2001.

FANTUZZI, G.; REED, D.A.; DINARELLO, C.A. IL-12-induced IFN-gamma is dependent on caspase-1 processing of the IL-18 precursor. *J Clin Invest*, v.104, p.761-767, 1999.

FERRARI, C.K.B.; FRANÇA, E.L.; HONORIO-FRANÇA, A.C. Nitric oxide, health and disease. *J Appl Biomed*, v.7, p.163-73, 2009.

FINLEY, W. J. Antioxidants in food: STATE OF THE SCIENCE IMPORTANT TO THE FOOD INDUSTRY. **JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY**, v.59,n.13,p.6837- 6846,2011.

FÖRSTERMANN, U. "Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies". *Nature clin. Practice*, v.6, p.338-349, 2008.

FRIED, S.K.; BUNKIN, D.A.; GREENBERG, A.S. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. PMID:9506738. v.83 n.3, p.847-50, 1998.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVI, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation Of The Concentration Of Low Density Lipoproteins Cholesterol In Plasma Without Use Of The Ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**.v.18p.499-502,1972.

FRIEDLANDER, M.; BLANDIN, C.C.; NGUYENKHOA, T.; NGUYEN, A.T.; ZINGRAFF, J. Et Al. Advanced Oxidation Protein Products As A Novel Marker Of Oxidative Stress In Uremia. **Kidney Int**,v.49,n.5,p.1304-13,1996.

FUJII, J. IUCHI, Y. OKADA, F. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol*, v.3, n.43. 2005.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*, v.340, n.6, p.448-54, 1999.

GAVA, A.A.; ZANONI, J.N. Envelhecimento celular. *Arq Ciênc Saúde Unipar*, v.9, n.1, p.41-6, 2005.

GHASEMI, A.; ZAHEDIASL, S.; AZZI, F. Reference values for serum nitric oxide metabolites in an adult population. *Clin Biochem*, n. 43, v.1-2, p. 89–94, Jan. 2010.

GILMARA, PANDOLFO, ZABOT. TESE. O Papel Da Glutamina Nas Alterações Intestinais Da Hipertensão Portal Em Ratos Submetidos Ao Modelo Experimental De Ligadura Parcial Da Veia Porta. 2017.

GOMES, I. et al. The multidimensional study of the elderly in the family health strategy in porto alegre, brazil (emi-sus). *Pan american journal aging research*,v.1,n.1,p.20-4,2013.

GOODPASTER, B.H.; PARK, S.W.; HARRIS, T.B.; KRITCHEVSKY, S.B.; NEVITT, M.; SCHWARTZ, A.V. et al. The Loss Of Skeletal Muscle Strength, Mass, And Quality In

Older Adults: The Health, Aging And Body Composition Study. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci** .v.61,n.10,p.1059-64,2006.

GOTTLIEB, M.G.V.; DA CRUZ, I.B.M.; DUARTE, M.F. et al. Association Among Metabolic Syndrome, Ischemia, Inflammatory, Oxidatives And Lipids Biomarkers. **The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism**.v.95,p.586-91,2010.

GOTTLIEB, M.G.V.; SCHWANKE, C.H.A.; GOMES, I.; DA CRUZ, I.B.M. Longevity And Aging In Rio Grande Do Sul State: **A Hystorical, Ethnic And Morbi-Mortality Profile Of Elderly People**, 2011.

GUTTERIDGE, J.M.; HALLIWELL, B. Antioxidants: molecules, medicines, and myths. **Biochem Biophys Res Commun**, v.4, n.393, p.561-4,2010.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free Radicals In Biology And Medicine. 2nd Ed. Oxford: **Clarendon**; 1989.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Espécies reativas e doenças: fato, ficção ou filibuster? In: Halliwell B, Gutteridge JMC, editores Radicais Livres em Biologia e Medicina (4ª ed.) Oxford: **Oxford University Press**, p.488-613,2007.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Pharmacological**, v.142,n.2,p.231-55,2004.

HARMAN, D. The free radical theory of aging. **Antioxid Redox Signal**, v.5, n.5, p.557-61, 2003.

HARRIS T. B.; FERRUCCI, L.; TRACY, R. P.; CORTI, M. C.; WACHOLDER, S.; ETTINGER, W. H. Associations of elevated interleukin-6 and creactive protein levels with mortality in the elderly. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 106, n. 5, p. 506-512, 1999.

HARRISON, F.E. "A critical review ofVITAMINC for the prevention of age-related cognitive decline and Alzheimer's disease". **American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias**, v.29,n4. 2012.

HERRERO, A.C.; IZQUIERDO, M. Ejercicio físico como intervención eficaz en el anciano frágil. **Journal Anales del sistema sanitario de Navarra**. v.35n.1,p.69-85, 2012.

HOBSON, E. E.; RALSTON, S. H. Role of genetic factors in the pathophysiology and management of osteoporosis. **Clinical Endocrinology**, Oxford, v. 54, n. 1, p. 1-9. 2001.

HRISTOZOV, D.; GADJEVA, V.; VLAYKOVA, T.; DIMITROV, G. Evaluation of oxidative stress in patients with cancer. **Arch Physiol Biochem**, v.109, n.4, p.331-6, 2001.

HUOYA, M.O. et, al. Comparação de biomarcadores inflamatórios entre pacientes diabéticos e não diabéticos com angina estável. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.92,p.4, 2006.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Revisão (2008). Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em: 07 de março, 2016.

IMAI, H. Biological significance of lipid hydroperoxide and its reducing enzyme, phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase, in mammalian cells. *Yakugaku Zasshi*, v.124, n.12, p.937-57, 2004.

INDAO, T, GUARIENTO M.E. Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.15,n.6,p.2845-2857,2010.

INDO, H.P.; YEN, H.C.; NAKANISHI, I.; MATSUMOTO, K.I.; TAMURA, M.; NAGANO, Y.; MATSUI, H.; GUSEV, O.; CORNETTE, R.; OKUDA, T.; MINAMIYAMA, Y.; ICHIKAWA, H.; SUENAGA, S.; OKI, M.; SATO T.; OZAWA, T.; DARET, K.; CLAIR, S.T. ,3 and Hideyuki J. Majima A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging. **Journal Of Clinical Biochemistry And Nutrition**, v.56,n.1,p.1–7,2015.

IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose **Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia**. 2007.

JIANG, C.Q.; LAM, T.H.; LIU, B.; LIN, J.M.; YUE, X.J.; JIN, Y.L. et al. Interleukin-6 receptor gene polymorphism modulates interleukin-6 levels and the metabolic syndrome: GBCS-CVD. *Obesity (Silver Spring)*, v.18, n.10, p.1969-74, 2010. <<http://dx.doi.org/10.1038/oby.2010.31>. PMID:20186139>.

JOHNSON, F.; SINCLAIR, D. Guarente L. Molecular biology of aging review. **Cell**, v.96,p.291-302,1999.

KALOUSOVA, M.; SKRHA, J.; ZIMA, T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. **Physiological Research**, v.51p.597e604,2002.

KALOUSOVÁ, M.; ZIMA, T.; TESAR, V. et al. Advanced glycoxidation and products in chronic diseases-clinical chemistry and genetic background. *Mutat Res*, v.11, n.579, p.1-2 e 37-46, 2005.

KASAP, S. GÖNENÇ, A.; ŞENER, D.E. et al. Serum cardiac markers in patients with acute myocardial infarction: oxidative stress, C-reactive protein and N-terminal probrain natriuretic peptide. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v.41,p.50-7,2007.

KEANY, F.J.R.; LARSON, M.G.; VASAN, R.S. et al. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v.23,p.434-9,2003.

KELLY, C.J.; SPEIRS, A.; GOULD, G.W.; PETRIE, J.R.; LYALL, H.; CONNELI, J.M. Altered vascular function in young women with polycystic ovary syndrome. **Journal Clinical Endocrinol Metabolismo**.v.87,n.2,p.742-6,2002.

KENDALL, D.M.; HARMEL, A.P. The metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease: understand the role of insulin resistance. **The American Journal of Managed Care**.v.8,n.20,p.S635-53,2002.

KINGSLEY, P.D. WHITIN, J.C. COHEN, H.J. PALIS, J. Developmental expression of extracellular glutathione peroxidase suggests antioxidant roles in deciduum, visceral yolk sac, and skin. *Mol Reprod Dev*, v.49, n.4, p.343-55, 1998.

KIRSCHIVINK, N.; LEKEUX, P. Oxidants and airway inflammations. Proceedings of the 3rd World Equine Airways Symposium, Ithaca, New York, USA. NewYork: **WEAS**; July 22.2005.

LENG, T.E. et al. Chronic inflammation is associated with low physical function in older adults across multiple comorbidities. **Journal Gerontology**, v.64,p.455-461, 2009.

LIBBY, P.; RIDKER, P.; MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, v.105, p.1135-43, 2002.

LIN, M.T.; WANG, M.Y.; LIAW, K.Y.; LEE, P.H.; CHIEN, S.F.; TSAI, J.S.; LIN-SHIAU, S.Y. Superoxide dismutase in hepatocellular carcinoma affects patient prognosis. *Hepatogastroenterology*, v.48, n.40, p.1102-5, 2001.

LOPES-TORRES, M.; PEREZ-CAMPO, R.; ROJAS, C.; CADENAS, S.; BARJA, G. Simultaneous induction of sod, glutathione reductase, GSH, and ascorbate in liver and kidney correlates with survival during aging. *Free Radc Biol Med*, v.15, n.2, p.133- 42, 1993.

MACY, E.M.; HAYES, T.E.; TRACY, R.P. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. *Clin Chem*, v.43, n.1, p.52-8, 1997.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, Baltimore, v.42, n.2, p.109-142, 1991. MORAGAS, R.M. Gerontologia social: **envelhecimento e qualidade de vida**. São Paulo: Paulinas.1997.

MORROW, D.A.; DE LEMOS, SABATINE, M.S.; ANTMAN, E.M. The search for a biomarker of cardiac ischemia. *Clin. Chem*, n.49, n.4, p.537-539, 2003.

MOUTSOPOULOS, H.M.; MAVRIDIS, A.K.; ACRITIDIS NC, AVGERINOS PC. High C-reactive protein response in lupus polyarthritis. *Clin Exp Rheumatol*, v.1, p.53-5, 1983.

MURRAY, A.A. MOLINEK, M.D. BAKER, S.J. KOJIMA, F.N. SMITH, M.F. HILLIER, S.G. et al. Role of ascorbic acid in promoting follicle integrity and survival in intact mouse ovarian follicles in vitro. *Reproduction*, v.121, n.1, p.89-96, 2001.

NAGASSAKI, S. I. F.; METZGER, D. C.; SOUZA-COSTA, A. S.; MARRONI, J. A.; UZUELLI, AND J. E. TANUS-SANTOS. eNOS genotype is without effect on circulating nitrite/nitrate level in healthy male population. *Thromb Res*, v.115, n.5, p.375-9, 2005.

National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, v. 106, p. 3143-3421. 2002

NIEMAN, D.C.; DAVIS, J.M.; HENSON, D.A.; GROSS, S.J. DUMKE, C.L.; UTTER, A.C. et al. Muscle cytokine mRNA changes after 2.5 h of cycling: influence of carbohydrate. ***Medicine & Science in Sports & Exercise***,v.37,p.1283-90,2005.

NIKKI, E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. ***Free Radical Biology and Medicine***, v.49,p.503-515,2010.

NOHL, H. Involvement of free radicals in ageing: a consequence or cause of senescence. *Br Med Bull*, v.49, n.3, p.653-67, 1993.

NORIS, M. M.; TODESCHINI, P.; CASSIS, F.; PASTA, A.; CAPPELLINI, S.; BONAZZOLA, D.; MACCONI, R.; MAUCCI, F.; PORRATI, A.; BENIGNI, C.; PICCIOLO, AND G. REMUZZI. L-arginine depletion in preeclampsia orients nitric oxide synthase toward oxidant species. *Hypertension*, v. 43, n.3, p.614-22, 2004.

OHTOSHI, K. Y.; YAMASAKI, S.; GOROGAWA, R.; HAYAISHI-OKANO, K.; NODE, M.; MATSUHISA, Y.; KAJIMOTO, AND M. HORI. Association of (-)786T-C mutation of endothelial nitric oxide synthase gene with insulin resistance. *Diabetologia*, v.45, n.11, p.1594-601, 2002.

OKAMURA, H.; TSUTSUI, H.; KASHIWAMURA, S. et al. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. *Adv Immunol*, v.70, p.281–312, 1998.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. ***Química Nova***, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

PALÁCIOS, J.; COLL, E.C & MARCHESI, A. Mudança e Desenvolvimento Durante a Idade Adulta e a Velhice. ***Desenvolvimento Psicológico e Educação Psicologia Evolutiva..*** v.1,n.2. Porto Alegre: Artmed.2009.

PANDEY, K.B.; RIZVI, S.I. Resveratrol May Protect Plasma Proteins from Oxidation under Conditions of Oxidative stress In Vitro. ***Journal of Brazilian Chemical Society***,v.21,n.5,p.909-913,2010.

PEARSON, T.A.; MENSAH, G.A.; ALEXANDER, R.W.; ANDERSON, J.L.; CANNON, R.O.; CRIQUI, M. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a Statement for Healthcare

Professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*, v.107, n.3, p.499-511, 2003.

PEDERSEN, B.K. The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. **Essays Biochem**,v.42,p.105–117,2006.

PEDERSEN, L.M.; HERMETTER, M.; BASU, S.; HANSEN, M.; HAREN, G.R.; KALL, M.; BREINHOLT, V.; CASTENMILLER, J.J.; STAGSTED, J. et al. Os 6-a-dia de estudo: efeitos de frutas e legumes nos marcadores de estresse oxidativo e de defesa antioxidante em não-fumantes saudáveis. **The American Journal of Clinical Nutrition**,v.79,p.1060-1072,2004.

PIERRAKOS, C.; VINCENT, J.L. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care*, v.14, p.15, 2010.

PIWOWAR, A.; KNAPIK-KORDECKA, M.; WARWAS, M. AOPP and its relations with selected markers of oxidative/antioxidative system in type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Research and Clinical Practice**,v.77,n.2,p.188–192,2007.

POLLARD, J. C.P.; BRANCO, S.K.L.;GREENWOOD, D.C.;CADE, J.E.;KIRK, S.F. Comparação de biomarcadores de plasma com métodos de avaliação do consumo de frutas, legumes e verduras. **The European Journal of Clinical Nutrition**,v.57,p. 988-98,2003.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R.; *J. Agric. Food Chem*, v.51, p. 3273, 2003.

PULIDO, R. et al. Study of plasma antioxidant status in Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**, v.12,p.531–535,2005.

RADAK, Z.; TAYLOR, A.W.; OHNO, H.; GOTO, S. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. **Exercise Immunology Review**.v.7,p.90-107,2001.

RICCI, M.S.; ZONG, W.X. Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways. *Oncologist*, v.11, p.342-57, 2006.

RIDKER, P.M. C-reactive protein, inflammation and cardiovascular disease – Clinical Update. *Tex Heart Inst J*, v.32, p.384-6, 2005.

ROBERTS, W.L.; MOULTON, L.; LAW, T.C.; FARROW, G.; COOPER-ANDERSON, M.; SAVORY, J. et al. Evaluation of nine automated high sensitivity C-reactive protein methods: implication for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem*, v.47, n.3, p.418-25, 2001.

ROGERO, M.M.; MENDES, R.R.; TIRAPEGUI, J. Síndrome de Overtraining. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**,v.49,p.359-68,2005.

SALMINEN, A. KAARNIRANTA, K. Nf-kappab signaling in the aging process. *J Clin Immunol*, v.29, n.4, p.397-405, 2009.

SAMMAN, S.; SIVARAJAH, L.;HOMEM, J.C.;AHMAD, Z.I.;PETOCZ. P.; CATERSON ,I.D. Uma fruta misturada e concentrado vegetal aumenta vitaminas antioxidantes no plasma e folato e reduz homocisteína plasmática em homens. **Journal of Nutrition**,v.133,p.2188-93,2003.

SATOE SHIMODA-MATSUBAYASHI, HIROTO MATSUMINE, TOMONORI KOBAYASHI, YUKO NAKAGAWA-HATTORI, YUMIKO SHIMIZU, AND YOSHIKUNI MIZUNO. Structural Dimorphism in the Mitochondrial Targeting Sequence in the Human Manganese Superoxide Dismutase Gene A Predictive Evidence for Conformational Change to Influence Mitochondrial Transport and a Study of Allelic Association in Parkinson's Disease *Biochemical And Biophysical Research Communications*, v.226, p. 561–565, 1996.

SELMECI, L. Advanced Oxidation protein products (AOPP): novel remic, or components of the non-enzymatic antioxidant system of the plasma proteome? *Free Radic*, v.45, n.10, p.1115-23, 2011.

Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, Kobayashi T, Nakagawa-Hattori Y, Shimizu Y, Mizuno Y. *Biochem Biophys Res Commun*, v.226, n.2, p.561-5,1996.

SILVA, S.; TASSARA, H. **Frutas no Brasil**. São Paulo: Nobel, 2001.

SIVIERO, J. et al. Aspectos relacionados ao hábito alimentar e estilo de vida de idosos acima de 80 anos e de seus familiares cuidadores em Veranópolis, RS. **Revista de Medicina da PUCRS**,v.12,n.4,p.342-50,2002.

SOUZA, J.RM & COLS. Níveis séricos de interleucina-6 (IL-6), interleucina-18 (IL-18) e proteína C reativa (PCR) na síndrome coronariana aguda sem supradesnívelamento do ST em pacientes com diabete tipo 2. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**,v.90,n.2,p.94-99,2008.

SPIRDUSO, W.W. Dimensões físicas do envelhecimento. Barueri, SP: Manole, 2005.

SPOSITO, A. C. et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol*, vol. 88, suppl.1, p.2-19, 2007.

SUTTON, A. et al. sas4 and sas5 are required for the histone acetyltransferase activity of sas2 in the sas complex. *J biol chem*, v. 278, n.19, p.16887-92, 2003.

SVENDSEN, M.; BLOMHOFF, R.; HOLME, I.; TONSTAD, S. O efeito de um aumento da ingestão de vegetais e frutas na perda de peso, pressão arterial e de defesa antioxidante em indivíduos com distúrbios respiratórios relacionados com o sono. **The European Journal of Clinical Nutrition**,v.61,p.1301-1311,2007.

TROEN, R.B. The biology of aging. **The Mount Sinai Journal of Medicine**,v.70,n.1,p.3-20,2003.

TSUKADA, T. K.; YOKOYAMA, T.; ARAI, F.; TAKEMOTO, S.; HARA, A.; YAMADA, Y. KAWAGUCHI, T.; HOSOYA, AND J. IGARI. Evidence of association of the ecNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 245, n.1, p.190-3, 1998.

VAN, S. J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol*, v.8, n.1, p.253-78, 1990. <[http:// dx.doi.org/10.1146/annurev. iy.08.040190.001345](http://dx.doi.org/10.1146/annurev.iy.08.040190.001345). PMID:2188664>.

VATS, P.; SAGAR, N.; SINGH, T.P.; BANERJEE, M. Association of Superoxide dismutases (SOD1 and MNSOD) and glutathione peroxidase 1 (GPx1) gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus . **Free Radical Research**.v.49,n.1, p.17–24,2015.

VERIT, F.F. EREL, O. KOCYIGIT, A. Association of increased total antioxidant capacity and anovulation in nonobese infertile patients with clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, v.88, n.2, p.418-24, 2007.

WAHLQVIST, M.L. "Antioxidant relevance to human health". **Asia Pacific Journal Of Clinical Nutrition**,v.22,n2.2013.

WALLACH, J. Interpretação de testes laboratoriais. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.

WANG, S.; WANG, F.; SHI, X.; DAI, J.; PENG, Y.; GUO, X. *et al.* Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) Val-9Ala polymorphism and cancer risk - A metaanalysis. *Eur J Cancer*, v.45, n.16, p.2874-2881, 2009.

WILLIAM, L. *et al.* Physical Activity and Public Health: Updated Recommendation for Adults from the American College of Sports Medicine, American Heart Association; *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2007.

WILSON, P.W.; D'AGOSTINO, R.B.; LEVY, D.; BELLANGER, A.M.; SILBERSHATZ, H.; KANNEL, W.B. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*, v.97, n.18, p.1837-47, 1998.

WITKO-SARSAT, V.; FRIEDLANDER, M.; CAPELLÈRE-BLANDIN, C.; NGUYEN-KHOA, T. *et al.* Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int*, v.49, n.5, p.1304-13, 1996.

World Health Organization. Envelhecimento ativo: uma política de saúde. Brasília: **Organização Pan-Americana Da Saúde**.2005.

YAMAGAMI, H.; KITAGAWA, K.; NAGAI, Y.; HOUGAKU, H.; SAKAGUCHI, M.; KUWABARA, K. *et al.* Higher levels of interleukin-6 are associated with lower echogenicity of carotid artery plaques. *Stroke*, v.35, n.3, p.677-81, 2004.

YOON, S. *et al.* Smoking status-dependent association of the 27-bp repeat polymorphism in intron 4 of endothelial nitric oxide synthase gene with plasma concentrations. *Clinica Chimica Acta*, Amstedam, v. 324, p.113-120, 2002

ZELKO, N.I.; MARIANI, J.T.; FOLZ, J.R. Superoxide Dismutase Multigene Family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (MNSOD), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution and expression. **Free Radical Biology and Medicine**,v.33,n.3,p.337-49,2002.

ANEXO 1. A QUESTIONNAIRE FOR ASSESSMENT OF LEISURE TIME PHYSICAL ACTIVITIES – MINNESOTA (TAYLOR *ET AL*, 1978).

Nome: _____									
No. Sexo: () Masc () Fem Data de Nascimento: ____/____/____									

ATIVIDADE	Você realizou esta atividade?	Últimas duas semanas	Média de	Tempo por ocasião
-----------	-------------------------------	----------------------	----------	-------------------

	não	sim	1ª sem	2ª sem	vezes por semana	Horas	Minuto s
SEÇÃO A Caminhada							
Caminhada recreativa							
Caminhada para o trabalho							
Uso de escadas quando o elevador está disponível							
Caminhada ecológica							
Caminhada com mochila							
Ciclismo recreativo / pedalando por prazer							
Dança – salão, quadrilha e/ou discotecas, danças regionais							
Dança aeróbica, balé							
SEÇÃO B Exercício de condicionamento							
Exercícios domiciliares							
Exercícios em clube/em academia							
Combinação de corrida/caminhada leve							
Corrida							
Musculação							
Canoagem em viagem de acampamento							
Natação em piscina							

(15 metros)							
Natação na praia							
SEÇÃO C Esportes							
Boliche							
Voleibol							
Tênis de mesa							
Tênis individual							
Tênis de dupla							
Basquete, sem jogo (bola ao cesto)							
Jogo de basquete							
Basquete							
Futebol							
SEÇÃO D Atividades no Jardim e na Horta							
Cortar a grama dirigindo um carro de cortar grama							
Cortar a grama andando atrás do cortador de grama motorizado							
Cortar a grama empurrando o cortador de grama manual							
Tirando o mato e cultivando o jardim e a horta							
Afofar, cavando e cultivando a terra no jardim e horta							

Trabalho com ancinho na grama							
SEÇÃO E Atividades e reparos domésticos							
Carpintaria em oficina							
Pintura interna de casa ou colocação de papel de parede							
Pintura exterior da casa							
SEÇÃO E Caça e pesca							
Pesca na margem do rio							
Caça a animais de pequeno porte							
Caça a animais de grande porte							
SEÇÃO G Outras atividades							
Caminhar como exercício							
Tarefas domésticas de moderadas a intensas							
Exercícios em bicicleta ergométrica							
Exercícios calistênicos							

ANEXO 2. MINI AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

NESTLÉ NUTRITION SERVICES

 **Mini Avaliação Nutricional®**
Mini Nutritional Assessment MNA™

Sobrenome: _____ Nome: _____ Sexo: _____ Data: _____

Idade: _____ Peso (kg): _____ Altura (cm): _____ Sexo: _____

Preencher a primeira parte deste questionário, indicando a resposta. Somar os pontos da Triagem. Caso o escore seja igual ou inferior a 11, concluir o questionário para obter a avaliação do estado nutricional.

Triagem

A Nas últimas três meses houve diminuição da ingestão alimentar devido a perda de apetite, problemas digestivos ou dificuldade para mastigar ou deglutir?
0 = diminuição severa da ingestão
1 = diminuição moderada da ingestão
2 = sem diminuição da ingestão

B Perda de peso nos últimos meses
0 = superior a três quilos
1 = não sabe informar
2 = entre um e três quilos
3 = sem perda de peso

C Mobilidade
0 = restrito ao leito ou à cadeira de rodas
1 = deambula mas não é capaz de sair de casa
2 = normal

D Passou por algum estresse psicológico ou doença aguda nos últimos três meses?
0 = sim 2 = não

E Problemas neuropsicológicos
0 = demência ou depressão graves
1 = demência leve
2 = sem problemas psicológicos

F Índice de massa corpórea (IMC = peso [kg] / estatura [m]²)
0 = IMC < 19
1 = 19 ≤ IMC < 21
2 = 21 ≤ IMC < 23
3 = IMC ≥ 23

Escore de triagem (subtotal, máximo de 14 pontos)

12 pontos ou mais normal; desnecessário continuar a avaliação

11 pontos ou menos possibilidade de desnutrição; continuar a avaliação

Avaliação global

G O paciente vive em sua própria casa (não em casa geriátrica ou hospitalar)?
0 = não 1 = sim

H Utiliza mais de três medicamentos diferentes por dia?
0 = sim 1 = não

I Lesões de pele ou escaras?
0 = sim 1 = não

J Quantas refeições faz por dia?
0 = uma refeição
1 = duas refeições
2 = três refeições

K O paciente consome:
• pelo menos uma porção diária de leite ou derivados (leite, iogurte)? sim não
• duas ou mais porções semanais de legumes ou ovos? sim não
• carne, peixe ou aves todos os dias? sim não
0,0 = nenhuma ou uma resposta «sim»
0,5 = duas respostas «sim»
1,0 = três respostas «sim»

L O paciente consome duas ou mais porções diárias de frutas ou vegetais?
0 = não 1 = sim

M Quantos copos de líquidos (água, suco, café, chá, leite) o paciente consome por dia?
0,0 = menos de três copos
0,5 = três a cinco copos
1,0 = mais de cinco copos

N Modo de se alimentar
0 = não é capaz de se alimentar sozinho
1 = alimenta-se sozinho, porém com dificuldade
2 = alimenta-se sozinho sem dificuldade

O O paciente acredita ter algum problema nutricional?
0 = acredita estar desnutrido
1 = não sabe dizer
2 = acredita não ter problema nutricional

P Em comparação a outras pessoas da mesma idade, como o paciente considera a sua própria saúde?
0,0 = não muito boa
0,5 = não sabe informar
1,0 = boa
2,0 = melhor

Q Circunferência do braço (CB) em cm
0,0 = CB < 21
0,5 = 21 ≤ CB ≤ 22
1,0 = CB > 22

R Circunferência da panturrilha (CP) em cm
0 = CP < 31 1 = CP ≥ 31

Avaliação global (máximo 16 pontos)

Escore da triagem

Escore total (máximo 30 pontos)

Avaliação do Estado Nutricional

de 17 a 23,5 pontos risco de desnutrição

menos de 17 pontos desnutrido

Ref.: Guigo Y, Velho D and Garry PJ. 1994. Mini Nutritional Assessment: A practical assessment tool for grading the nutritional state of elderly patients. Facts and Research in Gerontology Supplement 7:235-40.
Rubenstein LT, Harker JL, Guigo Y and Velho D. Comprehensive Geriatric Assessment (CGA) and the utility for clinicians of FRA, Nutritional Assessment, and Functional Status - Nutritional Assessment of the MNA. In: Mini Nutritional Assessment (MNA) Research and Practice in the Community. Velho D, Garry PJ and Guigo Y, editors. Health Nutrition Workshop Series. Clinical & Performance Programs, vol. 1. Garaje, MA, in press.
©1998 Société des Produits Nestlé S.A., Vevey, Switzerland, Trademark Nestlé

11.38 MNA

IDENTIFICAÇÃO

Nº Protocolo de Avaliação									
----------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

<p>Nome do Idoso _____</p> <p>_____ Data</p> <p>de nascimento do Idoso: ____/____/____</p> <p>Endereço Completo: _____</p> <p>_____</p> <p>Telefone:</p> <p>Pessoa para contato: _____</p> <p>Telefone:</p>
--

DADOS DEMOGRÁFICOS GERAIS

1. Há quanto tempo reside em Porto Alegre?

2. Residência:

(1) casa (2) apartamento

3. Onde residiu na maior parte da vida? Em meio urbano ou rural?

(1)urbano

(2)rural

(3)NR

4. Sexo

(1) masculino

(2) feminino

5. Cor/raça

(1)branca

(2)preta

(3)parda

(4)oriental

(5)indio

(6)NR

6. Estado civil:

(1) solteiro(a)

(2) casado(a)

(3) viúvo(a)

(4) separado(a)/desquitado(a)

(5) NR

7. Atualmente vive com companheiro(a)?:

(6) sim

(7) não

(8) NR

8. Escolaridade:

(1)analfabeto(a)

(2)não frequentou escola, mas sabe ler e escrever

(3)frequentou a escola, sabe ler e escrever, mas não completou a 4a. série

(4)completou a 4a. série, mas não completou o 2o. Grau

(5)completou o 2o. Grau, mas não tem curso superior

(6)tem curso superior

(7)NR

DADOS SÓCIO-ECONÔMICOS

9. Quantos filhos teve? _____

10. Destes filhos, quantos estão vivos? _____

11. Atualmente mora:

- (1) sozinho(a)
- (2) somente com cônjuge/companheiro(a)
- (3) com cônjuge/companheiro(a) e outros familiares
- (4) sem cônjuge/companheiro(a) e com outros familiares
- (5) com empregado ou cuidador
- (6) NR

12. Quantas pessoas moram na casa? _____

13. Está aposentado(a)?

- (1) sim
- (2) não
- (3) NR

14. Possui alguma atividade profissional remunerada?

- (1)sim, Qual? _____
- (2)não
- (3)NR

15. Profissão anterior? _____

16. Qual sua renda mensal ATUAL?

- (1) não tem renda própria.
- (2) menor que 1 salário mínimo (R\$465,00)
- (3) entre 1 e 2 salários mínimos
- (4) entre 2 e 4 salários mínimos
- (5) entre 4 e 6 salários mínimos
- (6) 6 salários mínimos ou mais
- (7) NR

17. Qual a renda mensal da família?

- (1) Até 1 salário mínimo (R\$465,00)
- (2) entre 1 e 3 salários mínimos
- (3) entre 3 e 5 salários mínimos
- (4) entre 5 e 8 salários mínimos
- (5) mais que 8 salários mínimos
- (6) NR

18. Quantas pessoas vivem desta renda? [_ _ _]

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica juntamente com o Instituto de Geriatria e Gerontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul estão desenvolvendo um projeto de pesquisa, sob o título de: **ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E CLÍNICO DOS IDOSOS ATENDIDOS PELA ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA (ESF) DO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE.**

A proposta desse projeto surgiu, devido ao aumento da incidência e prevalência de doenças crônicas não transmissíveis-DCNT- demências, osteoporose, diabetes, hipertensão arterial, obesidade, síndrome metabólica e agravos a saúde oriundo do próprio processo de envelhecimento (alterações nutricionais, antropométricas e de pele), bem como, as infecções parasitárias, que ainda são um grave problema de saúde pública na Brasil, em comunidades mais carentes. Além disso, idosos portadores dessas doenças têm um risco mais elevado de perda de qualidade de vida e morte. Essa pesquisa pretende contribuir tanto para o melhor conhecimento dessas doenças, como também para prevenção e tratamento mais eficaz dessas das mesmas em idosos de Porto Alegre.

Você está sendo convidado a participar desta pesquisa, por encontrar-se dentro dos critérios de inclusão desse projeto. Os participantes desta pesquisa serão submetidos a um questionário para obtenção de informações como identificação, estilo de vida, dados nutricionais, antropométricos, dermatológicos, prática de atividade física, saúde, história de doenças, uso de medicação e dados sócio-econômicos e culturais. Além disto, será coletado sangue para a análise genética e bioquímica, o que causará um leve desconforto temporário devido à picada da agulha, havendo possibilidade de formação de um pequeno hematoma na região da coleta. Também serão coletados fezes e urina, que não ofereceram nenhum risco.

Todos os participantes serão avaliados por uma equipe multidisciplinar (geriatra, psiquiatra, psicólogo, dermatologista, enfermeiro, nutricionista, farmacêutico). Todos os resultados obtidos serão confidenciais e ficarão sob a tutela e total responsabilidade dos pesquisadores deste projeto, podendo a qualquer momento ser consultado e/ou eliminados da pesquisa caso você desista da sua participação como voluntária. Você tem a liberdade de abandonar a pesquisa em qualquer fase desta, sem que isto leve a penalização alguma ou qualquer prejuízo posterior a você ou a sua família. Todos os resultados serão entregues para a unidade da ESF ao qual o idoso pertence.

Esta pesquisa praticamente não determina risco adicional ou dano à sua saúde e sua participação é isenta de remuneração ou ônus. No caso dos idosos que forem submetidos à biópsia de pele, no momento do exame pode ocorrer algum desconforto como: dor local, pequeno risco de sangramento, hiperemia no local.

Termo de Consentimento
Versão autorizada

Existem benefícios imediatos, já que os resultados desta avaliação servem como uma revisão médica gratuita, além de aquisição de informações e orientações sobre prevenção de doenças. Além disso, você participando desta pesquisa estará contribuindo na identificação de possíveis fatores que levam a maior predisposição às patologias e morbidades investigadas nesse projeto, possibilitando a melhoria do conhecimento e entendimento das mesmas, permitindo a prevenção e atenuação deste problema na nossa população.

Os pesquisadores envolvidos no Projeto garantem a você o direito a qualquer pergunta e/ou esclarecimentos mais específicos dos procedimentos realizados e/ou interpretação dos resultados obtidos nos exames. Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Dr. Irênio Gomes da Silva Filho e/ou integrantes da equipe de pesquisa pelo telefone (51) 3320 5120, e como Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde (CEPSMS) pelo telefone (51) 32895517 / 91441379.

Após ter recebido todas as informações relacionadas ao estudo eu, _____ portadora da CI _____ certifico que o responsável pelo projeto, Irênio Gomes da Silva Filho ou um da equipe de pesquisadores, responderá a todas as minhas perguntas sobre o estudo e minha condição, e eu, voluntariamente.

Nome do Paciente: _____

Assinatura do Paciente/Representante Legal: _____

Pesquisador(a) Responsável: _____

Assinatura: _____

Nome da Testemunha: _____

Assinatura da Testemunha: _____

Data ___ / ___ / ___

Observação: O presente documento baseado no item IV das Diretrizes e Normas Regulamentadoras para a pesquisa em saúde, do Conselho Nacional de Saúde (Resolução 196/96), será assinado em suas vias, de igual teor, ficando uma via em poder do Paciente ou de seu Representante Legal e outra com o Pesquisador Responsável.



ANEXO 5 – TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

OF.CEP-127/10

Porto Alegre, 26 de janeiro de 2010.

Senhor Pesquisador,

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 10/04967 intitulado **"Estudo epidemiológico e clínico dos idosos atendidos pela estratégia de saúde da família (ESF) do município de Porto Alegre"**.

Salientamos que seu estudo pode ser iniciado a partir desta data.

Os relatórios parciais e final deverão ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente,



Prof. Dr. José Roberto Goldim
Coordenador do CEP-PUCRS

ANEXO 6 – ADENDO DO TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

OF.CEP-127/10

Porto Alegre, 26 de janeiro de 2010.

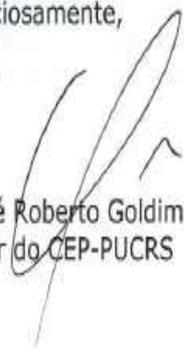
Senhor Pesquisador,

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 10/04967 intitulado **"Estudo epidemiológico e clínico dos idosos atendidos pela estratégia de saúde da família (ESF) do município de Porto Alegre"**.

Salientamos que seu estudo pode ser iniciado a partir desta data.

Os relatórios parciais e final deverão ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente,


Prof. Dr. José Roberto Goldim
Coordenador do CEP-PUCRS

ANEXO 7 - PARECER/CONEP



CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER Nº. 701/2011

Registro CONEP 16557 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

Folha de Rosto – 380143

Processo nº 25000.110511/2011-21

Projeto de Pesquisa: *"Identificação de marcadores genéticos e bioquímicos do metabolismo oxidativo para doenças crônicas não-transmissíveis em idosos"*. Protocolo versão de setembro de 2010.

Pesquisador Responsável: Irênio Gomes da Silva Filho

Instituição: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS (CENTRO ÚNICO)

CEP de origem: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS

Área Temática Especial: Genética Humana

Patrocinador: Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS.

Sumário geral do protocolo

Introdução: As doenças e agravos crônicos não-transmissíveis (DCNT) são as principais causas de morbimortalidade em indivíduos com idade acima de 80 anos, tanto em países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento. Muitos idosos são acometidos por DCNT - estados permanentes ou de longa permanência que requerem acompanhamento constante, pois não têm cura. As DCNT com maior incidência e prevalência entre o segmento idoso da população são: as demências, a osteoporose, as doenças cardiovasculares (DCVs), e a chamada síndrome metabólica (SM), que é um conjunto de fatores de risco cardiovasculares que inclui obesidade abdominal, hiperglicemia ou diabetes mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica. Essas DCNT podem desencadear processos incapacitantes, afetando a funcionalidade dos indivíduos idosos, dificultando ou impedindo o desempenho de suas atividades cotidianas de forma independente, o que pode comprometer de maneira significativa a qualidade de vida dos idosos.

Diversos estudos têm investigado o papel do metabolismo oxidativo na gênese dessas DCNT e indicam uma associação entre a quebra da homeostasia do metabolismo oxidativo e o aumento do risco para o DCNT. Além disso, as Espécies Ativas de Oxigênio (EAO) são consideradas um fator causal no envelhecimento e, em um grande número de condições patológicas. Tendo isto em vista, a identificação e caracterização de marcadores genéticos e bioquímicos do metabolismo oxidativo e sua ação fisiopatológica no organismo são fundamentais para que se compreenda porque determinados indivíduos são mais suscetíveis a desenvolverem DCNT.

Objetivos: primário: "Identificar marcadores genéticos e bioquímicos do metabolismo oxidativo para doenças crônicas não-transmissíveis em idosos."

Os objetivos secundários são: (1) Determinar a prevalência das seguintes DCNT na população de idosos atendidos pela Estratégia Saúde da Família (ESF) da Secretaria de

Cont. Parecer CONEP nº 701/2011

Saúde do Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul pelos ambulatórios específicos do Hospital São Lucas da PUCRS: (a) doenças neurodegenerativas (doença de Alzheimer, doença de Parkinson); (b) síndrome metabólica (SM); (c) osteopenia/osteoporose; (d) diabetes mellitus tipo 2. (2) Determinar as frequências gênicas e genotípicas do polimorfismo do gene da SOD2 em idosos com DCNT; (3) Determinar a expressão gênica do gene da SOD2 em idosos com DCNT; (4) Determinar os níveis de marcadores do estresse oxidativo (TBARS, enzimas antioxidantes SOD2, catalase e glutationa-peroxidase, carbonilação de proteínas, LDL-ox, antiLDL-ox, polifenóis totais e dano de DNA por teste cometa) em idosos com DCNT. (5) Verificar se existe associação entre expressão e o polimorfismo do gene da SOD2 e DCNT em idosos; (6) Verificar se existe associação entre expressão e o polimorfismo do gene da SOD2 e os marcadores do estresse oxidativo em idosos com DCNT; (7) Verificar se existe associação entre expressão e do polimorfismo do gene da SOD2 e dos marcadores do estresse oxidativo com o estilo de vida (dieta e atividade física) em idosos com DCNT; (8) Determinar os valores preditivos, na população, dos marcadores identificados, que tenham potencial uso para o diagnóstico precoce das DCNT em idosos.

Desenho do estudo: Trata-se de estudo observacional, transversal (primeira etapa) e de caso-controle (segunda etapa), onde serão comparadas variáveis genéticas, clínicas, bioquímicas e ambientais entre indivíduos saudáveis e com doenças crônicas não-transmissíveis (doença de Alzheimer, demência vascular, doença de Parkinson, síndrome metabólica, osteoporose e diabetes tipo 2) oriundos da população de idosos atendidos pela ESF e pelos ambulatórios específicos do Hospital São Lucas da PUCRS (HSL-PUCRS).

Métodos: Serão realizadas três etapas:

ETAPA 1: determinação da prevalência das DCNT em uma amostra de 1050 idosos atendidos nas ESFs de Porto Alegre e será desenvolvida em 2 anos. Inicialmente será aplicado um questionário nas residências dos 30 idosos sorteados aleatoriamente de cada equipe da ESF, pelos agentes comunitários de saúde (previamente treinados). Posteriormente os idosos serão submetidos à avaliação multiprofissional (médicos, enfermeiros, nutricionistas, neuropsicólogos) e coleta de sangue. Esta etapa será realizada em parceria com a Secretaria Municipal de Saúde que cederão agentes comunitários de saúde do Município para a coleta de dados na residência dos idosos.

ETAPA 2: serão recrutados os idosos com DCNT identificados na etapa 1 e aqueles que são atendidos no HSL-PUCRS para formar os grupos de caso-controle (compostos por 150 idosos/grupo=750). "Grupos Casos": será composta por idosos portadores de DCNT: Grupo casos 1: idosos com doença de Alzheimer; Grupo casos 2: idosos com doença de Parkinson; Grupo casos 3: idosos com SM; Grupo casos 4: idosos com osteopenia/osteoporose; Grupo casos 5: idosos com diabetes tipo 2. Grupos Controles: idosos saudáveis, provenientes do inquérito familiar populacional da ESF: sem doenças neurodegenerativas, SM, doença vascular periférica, osteoporose, neoplasias, doença reumática, doença tiroideana e obesidade e que não sejam tabagistas e nem etilistas, e que não estejam usando medicamentos imunossupressores. Desta população será escolhido um grupo controle para cada grupo caso, pareado por sexo e idade. Ainda durante a ETAPA 2 serão realizadas as análises genéticas (genotipagem e expressão do gene da SOD2) e a determinação dos marcadores do estresse oxidativo (TBARS, enzimas antioxidantes SOD2, catalase e glutationa-peroxidase, LDL-ox, antiLDL-ox, polifenóis totais e dano de DNA por teste cometa).

ETAPA 3: a partir da análise da expressão e da genotipagem do gene da SOD2, da determinação dos níveis dos marcadores do estresse oxidativo e dos testes de associação ou correlação entre esses marcadores e as DCNT serão escolhidos os

Cont. Parecer CONEP nº 701/2011

Resposta: "O Termo de consentimento livre e esclarecido foi reformulado de acordo com as considerações do CONEP. Dessa forma, foi inserido um parágrafo garantindo o direito ao sujeito de pesquisa de se recusar a responder a qualquer pergunta, que no seu entendimento, lhe causem constrangimentos de alguma natureza. Nós inserimos questões sócio-demográficas e culturais no questionário geral do estudo, pois como se trata de uma investigação com um tamanho amostral grande é importante ter conhecimento e fazer uma descrição do perfil sócio-demográfico e cultural dessa amostra de idosos. Além disso, mesmo que o projeto tenha um foco genético, molecular e bioquímico, é muito possível que essas variáveis sócio-demográficas e culturais tenham um papel indireto na modulação fisiológica de marcadores genéticos, bioquímicos e inflamatórios. Isto porque, variáveis como escolaridade, renda, religião e até mesmo o estado civil podem afetar, o estilo de vida adotado por determinado idoso, como por exemplo, a qualidade da dieta adotada, a prática de atividade física e até mesmo o estado de humor, onde a literatura também tem demonstrado que pode funcionar como modulador da expressão gênica e de processos inflamatórios. Dessa forma, achamos importante coletar também essas informações para compreendermos de forma mais integral as relações entre fatores intrínsecos e extrínsecos que se dão durante o envelhecimento e que promovem o aumento da incidência de doenças crônicas não transmissíveis."

Análise: Os esclarecimentos apresentados são satisfatórios. A modificação realizada na nova versão do TCLE atende ao solicitado. Pendência atendida.

3. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:
 - a. O documento não é versado em forma de convite à participação do indivíduo recrutado em participar da pesquisa. Solicita-se adequação.

Resposta: "O TCLE foi reformulado para a forma convite"

Análise: A adequação solicitada foi realizada. Porém, relativamente à versão anterior, foi acrescentada a expressão "estudo de pesquisa" (primeira linha da página 1/2), o que não se aplica. Visando o pleno esclarecimento do sujeito convidado a participar do estudo, solicita-se substituir "estudo de pesquisa" por "pesquisa" ou "estudo" (Resolução CNS 196/96, item IV.1). Pendência parcialmente atendida.
 - b. O documento é composto por 4 laudas, entretanto não há nenhum indicativo de contagem das páginas. Solicita-se a inclusão dos números das páginas.

Resposta: "O número de páginas foi acrescentado ao TCLE"

Análise: A adequação solicitada foi realizada e o termo teve seu número de páginas reduzido para dois. No entanto, conforme se encontra formatado, não há qualquer separação física entre o conjunto de informações apresentadas pelos pesquisadores ao sujeito e a declaração do mesmo atestando seu aceite em participar da pesquisa. Visando dar maior clareza e destaque a cada conjunto de informações, solicita-se adequação. Pendência parcialmente atendida.
 - c. Não consta campo definido para a autenticação das páginas do documento com as rubricas do sujeito recrutado e do pesquisador, validando as informações contidas nas laudas que trazem apenas informações (sem campos identificadores e de assinatura). Solicita-se a inclusão de campos para a coleta das rubricas do sujeito de pesquisa recrutado e do pesquisador com a finalidade de assegurar a integridade das informações contidas no documento.

Resposta: "O campo para a rubrica tanto do pesquisador responsável, quanto do sujeito de pesquisa foi inserido ao final de cada página"

Análise: Pendência atendida.

- d. O texto não utiliza linguagem acessível à população leiga. Faz uso de termos rotineiros da área de ciências médicas e biológicas sem a devida explicação (exemplos: doença de Parkinson, síndrome metabólica, diabetes tipo 2, osteoporose Doenças Crônicas Não-Transmissíveis, genótipo, genotipagem). Solicita-se a adequação do texto para a população leiga.

Resposta: "O texto do TCLE foi adaptado para uma linguagem mais coloquial e acessível para a perfeita compreensão do sujeito de pesquisa"

Análise: Em atendimento, o TCLE foi feito com as necessárias adequações de linguagem. Pendência atendida.

- e. Foi observado na primeira página do documento um termo grafado incorretamente: "[...] apresentam uma maior frequência de determinado genótipo (AA, AV ou VV) ou menor [...]" (grifo nosso). Solicita-se adequação.

Resposta: "Todo o texto foi corrigido ortograficamente"

Análise: O referido trecho foi retirado da nova versão do TCLE proposto para o estudo. Pendência atendida.

- f. Consta a seguinte informação na primeira página do documento: "Este projeto não representa nenhum tipo de risco ao sujeito de pesquisa, seja individual ou para a família, moral, psicológico ou de caráter social, pois tem apenas o objetivo de identificar marcadores [...]" (grifo nosso). Solicita-se a retirada da informação tendo em vista que a mesma não condiz com a verdade, pois haverá um procedimento invasivo previsto no protocolo (coleta de sangue) que sempre envolve o risco de ocorrência de contaminações e desenvolvimento de processos infecciosos. Cabe lembrar ainda que existe o risco de que os resultados obtidos das análises genéticas e da anamnese possam ser expostos (ainda que acidentalmente) sem o consentimento do sujeito de pesquisa. Além disso, ressalta-se que tal informação está em desacordo com a Resolução CNS 196/96 item V - RISCOS E BENEFÍCIOS ("Considera-se que toda pesquisa envolvendo seres humanos envolve risco. O dano eventual poderá ser imediato ou tardio, comprometendo o indivíduo ou a coletividade") (grifo nosso).

Resposta: "Todo o parágrafo onde dizia que o projeto não oferecia nenhum tipo de risco ao sujeito de pesquisa, seja individual ou para a família, moral, psicológico ou de caráter social, pois tem apenas o objetivo de identificar marcadores [...] foi retirado do texto, pois não está em consonância com a resolução CNS 196/96"

Análise: A informação apontada, inapropriadamente incluída na versão original do Termo, foi retirada em atendimento à solicitação. Pendência atendida.

- g. Uma vez que está confirmada a intenção de constituição de banco de amostras para uso em estudos futuros, deve ser apresentado o respectivo regulamento ou norma para armazenamento de materiais biológicos humanos, o que não foi encontrado junto à documentação encaminhada para análise da CONEP. Solicita-se que as exigências da Resolução 441/11 sejam atendidas. A avaliação final deste protocolo está condicionada a apresentação de um protocolo para a regulamentação do banco de amostras.

Cont. Parecer CONEP nº 701/2011

Resposta: "A intenção de constituição de banco de amostras de material biológico, no caso, sangue, DNA e RNA dos sujeitos da pesquisa foi descartada, pois a criação de biobancos dentro da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul ainda está em fase de regulamentação. Dessa forma, o presente projeto coletará apenas a quantidade de sangue (8 mL) necessária para a realização dos exames laboratoriais para a obtenção dos resultados dessa investigação, descartando a possibilidade de armazenamento desse material em freezer. Além disso, caso ainda sobre algum material biológico dos idosos, o mesmo será devidamente descartado dentro das normas de segurança."

Análise: Conforme explicitado pelo pesquisador responsável, optou-se pela não realização de armazenamento de amostras biológicas humanas com vistas à utilização em pesquisas futuras. Pendência atendida.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento das questões acima, antes do início do estudo.

Situação: Protocolo aprovado com recomendação.

Brasília, 16 de novembro de 2011.



Gyselle Saddi Tannous
Coordenadora da CONEP/CNS/MS

ANEXO 8- ADENDO DO TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PUCRS



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

OF.CEP-1208/10

Porto Alegre, 05 de novembro de 2010.

Senhor Pesquisador,

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 10/05242 intitulado **"Identificação de marcadores genéticos e bioquímicos do metabolismo oxidativo para doenças crônicas não-transmissíveis"**.

Salientamos que seu estudo pode ser iniciado a partir desta data.

Os relatórios parciais e final deverão ser encaminhados a este CEP.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Virginia Minghelli Schmitt
Coordenadora Substituta do CEP-PUCRS

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. Irenio Gomes da Silva Filho
IGG
Nesta Universidade

PUCRS

Campus Central
Av. Ipiranga, 6690 - 3º andar - CEP: 90610-000
Sala 314 - Fone Fax: (51) 3320-3345
E-mail: cep@pucrs.br
www.pucrs.br/prppg/cej

ANEXO 9 - PARECER/PROCESSO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PREFEITURA MUNICIPAL DE PORTO ALEGRE

Subprojeto 4: PREVALÊNCIA DE SÍNDROME METABÓLICA E DE FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM IDOSOS ATENDIDOS PELA ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE. *Objetivo:* a) Descrever a prevalência de SM através de 3 diferentes critérios. b) Descrever a prevalência dos componentes individuais da SM. c) Analisar a associação entre SM e escore de risco cardiovascular de Framingham. d) Construir banco de dados que possibilite estudos longitudinais futuros.

Subprojeto 5: PREVALÊNCIA DE OSTEOPOROSE E SUA ASSOCIAÇÃO COM RISCO DE FRATURAS EM IDOSOS ATENDIDOS PELA ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE. *Objetivo:* a) Mensurar valores de ultrasonometria de calcâneo em idosos. b) Mensurar valores da densidade mineral óssea pela densitometria óssea em parte dos idosos. c) Relacionar os valores de ultrasonometria de calcâneo com a densidade mineral óssea da densitometria óssea de Coluna Lombar e Fêmur Proximal. d) Mensurar níveis séricos de cálcio e PTH.

Subprojeto 6: ESTADO NUTRICIONAL E HABITO ALIMENTAR DOS IDOSOS ATENDIDOS NA ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA (ESF) DO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE E SUA ASSOCIAÇÃO COM DÉFICIT COGNITIVO. *Objetivo :* a) Descrever o estado nutricional dos idosos atendidos na Estratégia Saúde da Família (ESF) do Município de Porto Alegre b) Descrever o padrão alimentar dos idosos atendidos na Estratégia Saúde da Família (ESF) do Município de Porto Alegre. c) Verificar se existe associação entre o estado nutricional dos idosos e déficit cognitivo. d) Verificar se existe associação entre o padrão dietético dos idosos e déficit cognitivo. e) Verificar a associação do estado nutricional e do padrão alimentar com os diagnósticos específicos de déficit cognitivo (transtorno cognitivo leve, doença de Alzheimer, demência vascular).

Subprojeto 7: MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS RELACIONADAS A RISCO DE DOENÇA E MORTE. *Objetivo:* a) Descrever o perfil antropométrico; b) Analisar as medidas antropométricas; c) Verificar a associação entre as medidas antropométricas e o risco de doenças crônicas não transmissíveis; d) Construir um banco de dados que possibilite estudos longitudinais futuros.

Subprojeto 8: DERMATOSES EM IDOSOS ATENDIDOS PELA ESF DE PORTO ALEGRE – RS. *Objetivo:* a) Identificar as principais dermatoses em idosos atendidos pelo Programa de Saúde da Família de Porto Alegre – RS; b) Determinar a prevalência das dermatoses em idosos atendidos pelo Programa de Saúde da Família de Porto Alegre – RS; c) Analisar eventos associados com as causas das dermatoses em idosos atendidos pelo Programa de Saúde da Família de Porto Alegre - RS, permitindo que sejam traçadas estratégias de prevenção das mesmas.

Subprojeto 9: PREVALÊNCIA DE POLINEUROPATIA DIABÉTICA SENSITIVO-MOTORA DISTAL SIMÉTRICA EM IDOSOS COM DIABETES MELLITUS TIPO 2, ATENDIDOS PELA REDE BÁSICA DE SAÚDE DO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE. *Objetivo:* a) Determinar a prevalência de polineuropatia diabética sensitivo-motora distal simétrica nos idosos com DM2, atendidos ESF de Porto Alegre. b) Analisar eventos associados as causas da polineuropatia diabética sensitivo-motora distal simétrica, permitindo que sejam traçadas estratégias de prevenção das mesmas. c) Relacionar a prevalência de polineuropatia diabética sensitivo-motora distal simétrica com o controle glicêmico, tratamento e tempo de duração da doença. d) Avaliar a eficácia dos monofilamentos de Semmes - Weinstein no diagnóstico e prognóstico do pé com neuropatia diabética. e) Correlacionar a sensibilidade cutânea dos pés, os achados clínicos e o eletroneuromiográficos.

Subprojeto 10: ASSOCIAÇÃO DA PERCEPÇÃO CORPORAL, ESTADO NUTRICIONAL E CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS EM IDOSAS. *Objetivo:* - verificar a associação da percepção da imagem corporal, estado nutricional, autoestima e características sociodemográficas de idosas acima de 60 anos, atendidas pela estratégia de saúde da família do município de Porto Alegre. - analisar a percepção da imagem corporal das idosas; - verificar a associação da percepção da imagem corporal com o estado nutricional das idosas; - verificar a associação da percepção da imagem corporal com as variáveis sociodemográficas (nível socioeconômico, escolaridade, idade e estado civil).

Subprojeto 11: PREVALÊNCIA DE TRANSTORNOS PSIQUIÁTRICOS NA POPULAÇÃO DE IDOSO ATENDIDOS PELO ESF DE PORTO ALEGRE. *Objetivo :* a) Determinar a prevalência de transtornos psiquiátricos na população de idoso atendidos pelo PSF de Porto Alegre.

Subprojeto 12: AUTOPERCEPÇÃO DE ENVELHECIMENTO E SUA ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSÍVEIS (DCNT) EM IDOSOS ATENDIDOS PELO ESF DE PORTO ALEGRE. *Objetivo :* - verificar a associação da autopercepção de envelhecimento e a incidência de DCNT em idosos acima de 60 anos, atendidas pela estratégia de saúde da família do município de Porto Alegre. - analisar a autopercepção de envelhecimento dos idosos; - verificar a associação da autopercepção do envelhecimento com a incidência de DCNT nos idosos; - verificar a associação da autopercepção do envelhecimento com as variáveis sócio-demográficas (nível socioeconômico, escolaridade, idade e estado civil).



Prefeitura Municipal de Porto Alegre
Secretaria Municipal de Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO

Pesquisador (a) Responsável: Irenio Gomes da Silva Filho

Equipe executora: Alfredo Cataldo Neto, Carla Helena Augustin Schwanke, Geraldo Atílio de Carli, Karin Viegas, Maria Gabriela Valle Gottlieb, Rodolfo Herberto Schneider, Elen Maria Bandeira Borba.

Registro do CEP: 499 **Processo N°.** 001.021434.10.7

Instituição onde será desenvolvido: Secretaria Municipal de Saúde – todas as Gerencias Distritais

Utilização: TCLE

Situação: APROVADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre analisou o processo N 001.021434.10.7, referente ao projeto de pesquisa: “**Estudo epidemiológico e clínico dos idosos atendidos pela Estratégia de Saúde da Família (ESF) do município de Porto Alegre**”, tendo como pesquisador responsável Irenio Gomes da Silva Filho cujo objetivo é “Analisar a ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), infecto-parasitárias, alterações nutricionais, antropométricas, cutâneas e marcadores genéticos e bioquímicos oxidativo em idosos atendidos pela Estratégia de Saúde da Família (ESF) do município de Porto Alegre”.

Subprojeto 1 : PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DE DEMÊNCIA EM IDOSOS ATENDIDOS PELO PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE. **Objetivo a)** Validar um instrumento de identificação de demência para idosos de baixa renda e escolaridade, que possa ser aplicado por agentes comunitários de saúde em populações. **b)** Determinar a prevalência de demência em idosos atendidos pelo programa de saúde da família do município de Porto Alegre. **c)** Identificar fatores de risco para demência em uma população de baixa renda. **d)** Criar uma coorte de pacientes com demência, que será acompanhada no ambulatório de neuropsiquiatria do IGG. **e)** Desenvolver um banco de dados para acompanhamento dos pacientes atendidos no ambulatório de neuropsiquiatria do IGG

Subprojeto 2 : IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES GENÉTICOS E BIOQUÍMICOS DO METABOLISMO OXIDATIVO PARA DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSÍVEIS EM IDOSOS. **Objetivo a)** Determinar a prevalência das seguintes DCNT na população de idosos atendidos pelo Programa de Saúde da Família da Secretaria de Saúde do Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul: - doenças neurodegenerativas (doença de Alzheimer, demência vascular, doença de Parkinson), - síndrome metabólica (SM), - doença cardiovascular diagnosticada previamente, - osteopenia/osteoporose, - diabetes mellitus tipo 2. **b)** Determinar as frequências gênicas e genotípicas do polimorfismo do gene da SOD2 em idosos com DCNT. **c)** Determinar os níveis de marcadores do estresse oxidativo (TBARS, enzimas antioxidantes SOD2, catalase e glutatona-peroxidase, carbonilação de proteínas, LDLox, antiLDL-ox, polifenóis totais e dano de DNA por teste cometa) em idosos com DCNT. **d)** Verificar se existe associação entre o polimorfismo do gene da SOD2 e DCNT em idosos. **e)** Verificar se existe associação entre o polimorfismo do gene da SOD2 e os marcadores do estresse oxidativo em idosos com DCNT. **f)** Verificar se existe associação entre o polimorfismo do gene da SOD2 e dos marcadores do estresse oxidativo com o estilo de vida (dieta e atividade física) em idosos com DCNT. **g)** Determinar os valores preditivos, na população, dos marcadores identificados, que tenham potencial uso para o diagnóstico precoce das DCNT em idosos.

Subprojeto 3: PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES ENTEROPARASITÁRIAS NA POPULAÇÃO IDOSA ATENDIDA PELO PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DA CIDADE DE PORTO ALEGRE. **Objetivo :** **a)** Avaliar a prevalência de idosos infectados por enteroparasitos e descrever os enteroparasitos encontrados através do exame parasitológico de fezes (EPF). **b)** Avaliar a prevalência de anemia e eosinofilia nos idosos infectados por enteroparasitos através da análise do hemograma. **c)** Relacionar as condições socioeconômicas e hábitos de higiene com a prevalência de idosos infectados por enteroparasitos através de questionário.

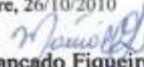
Assim, o projeto preenche os requisitos fundamentais das resoluções. O Comitê de Ética em Pesquisa segue os preceitos das resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Conselho Nacional de Ética em Pesquisa / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Em conformidade com os requisitos éticos, classificamos o presente protocolo como **APROVADO**.

IMPORTANTE : Deverá ser acordado com a coordenação/supervisão da ESF escolhida para realização desta pesquisa, "Qual o agente comunitário que estará atuando junto aos pesquisadores e em que horário do seu dia de trabalho estarão disponível para pesquisa".

O Comitê de Ética em Pesquisa, solicita que :

1. Enviar primeiro relatório parcial em seis meses a contar desta data;
2. Informar imediatamente relatório sobre qualquer evento adverso ocorrido;
3. Comunicar qualquer alteração no projeto e no TCLE;
4. Entregar junto com o relatório, todos os TCLE assinados pelos sujeitos de pesquisas e a apresentação do trabalho.
5. Após o término desta pesquisa, o pesquisador responsável deverá apresentar os resultados junto à equipe da unidade a qual fez a coleta de dados e/ou entrevista, inclusive para o Conselho Local da Unidade de Saúde.

Porto Alegre, 26/10/2010


Márcia Cançado Figueiredo
Vice-Coordenadora do CEP



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Pró-Reitoria de Graduação
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º andar
Porto Alegre - RS - Brasil
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1664
E-mail: prograd@pucrs.br
Site: www.pucrs.br